

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA**

**INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y TECNOLOGÍA DE  
ALIMENTOS**



**TESIS DOCTORAL**

**CONTENIDO EN ENZIMAS Y COMPOSICIÓN  
LIPÍDICA DE MEMBRANAS PANCREÁTICAS, EN  
CONEJOS CON ATEROSCLEROSIS. INFLUENCIA  
DE LA INGESTA DE DISTINTOS TIPOS DE GRASA  
(GIRASOL, OLIVA Y PESCADO)**

**M<sup>a</sup> Alba Martínez Burgos  
Granada, Julio 2001**



**CONTENIDO EN ENZIMAS Y COMPOSICIÓN  
LIPÍDICA DE MEMBRANAS PANCREÁTICAS, EN  
CONEJOS CON ATEROSCLEROSIS. INFLUENCIA  
DE LA INGESTA DE DISTINTOS TIPOS DE GRASA  
(GIRASOL, OLIVA Y PESCADO)**

Memoria que presenta la Lda. Dña.  
M<sup>a</sup> Alba Martínez Burgos para aspirar  
al grado de Doctora en Ciencias (Biológicas)

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada bajo las direcciones de:

Prof. Dr. D. Emilio  
Martínez de Victoria Muñoz

Prof. Dr. D. Mariano  
Mañas Almendros

Dña. M<sup>a</sup> Alba Martínez Burgos  
aspirante al grado de Doctora  
en Ciencias (Biológicas)



D. Emilio Martínez de Victoria Muñoz, Catedrático del Departamento de Fisiología de la Universidad de Granada.

D. Mariano Mañas Almendros, Catedrático del Departamento de Fisiología de la Universidad de Granada.

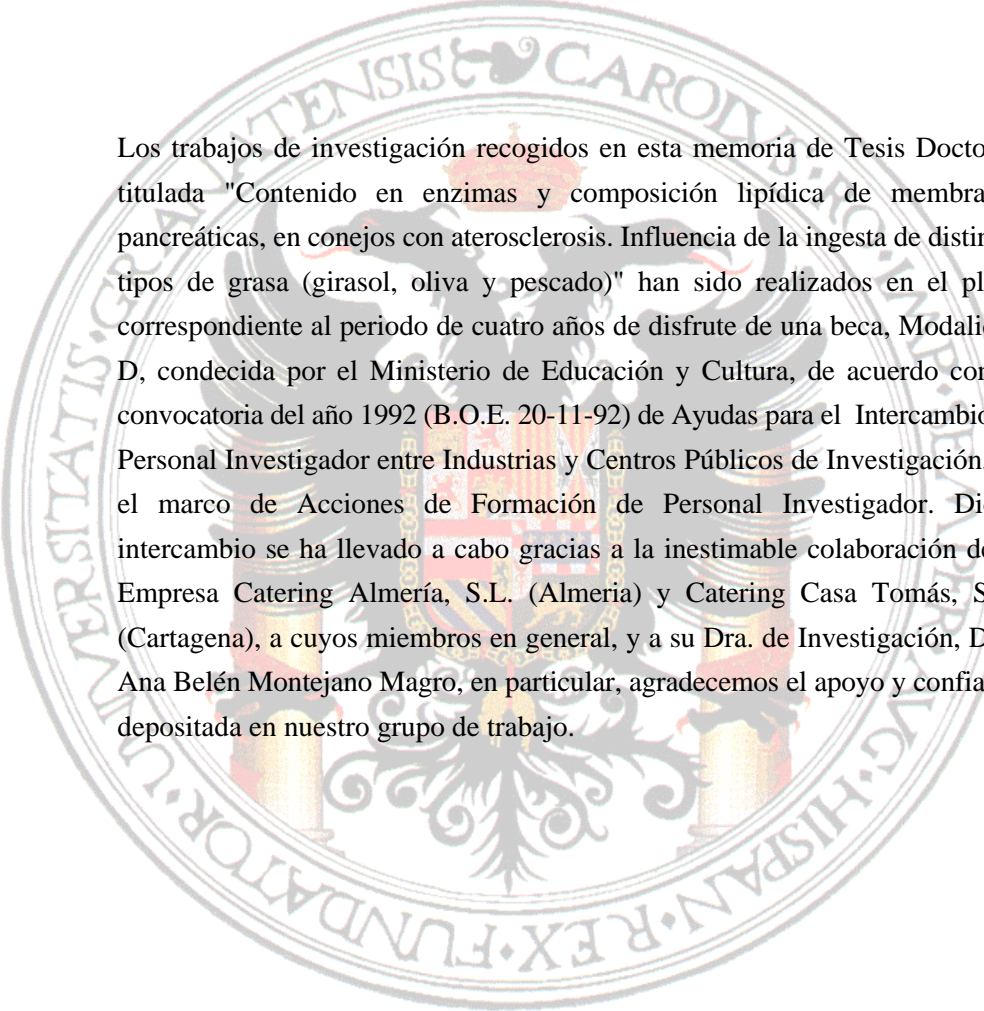
**CERTIFICAN:** Que los trabajos de investigación que se exponen en la Memoria de Tesis Doctoral: "**CONTENIDO EN ENZIMAS Y COMPOSICIÓN LÍPIDICA DE MEMBRANAS PANCREÁTICAS, EN CONEJOS CON ATEROSCLEROSIS. INFLUENCIA DE LA INGESTA DE DISTINTOS TIPOS DE GRASA (GIRASOL, OLIVA Y PESCADO)**" han sido realizados en el Departamento de Fisiología, en el Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Granada y en el Departamento de I+D de la Empresa Catering Almería, S.L. (Almería) y Catering Casa Tomás, S.A. (Cartagena), correspondiendo fielmente a los resultados obtenidos. La presente memoria ha sido revisada por nosotros, encontrándola conforme para ser presentada y aspirar al grado de Doctora en Ciencias Biológicas por el Tribunal que en su día se designe.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, extendemos el presente en Granada, con fecha de trece de Junio de dos mil uno.

Prof. Dr. D. Emilio Martínez de  
Victoria Muñoz

Prof. Dr. D. Mariano Mañas  
Almendros



The seal of the University of Granada is a large, circular emblem in the background. It features a central shield with a crown on top, flanked by two lions. The shield is surrounded by a decorative border with the Latin text "UNIVERSITATIS GRANATAE" at the top and "R. EX. FUNDATOR. V. G. HISPAN." at the bottom. The text "CAROLUS" is also visible on the right side of the seal.

Los trabajos de investigación recogidos en esta memoria de Tesis Doctoral, titulada "Contenido en enzimas y composición lipídica de membranas pancreáticas, en conejos con aterosclerosis. Influencia de la ingesta de distintos tipos de grasa (girasol, oliva y pescado)" han sido realizados en el plazo correspondiente al periodo de cuatro años de disfrute de una beca, Modalidad D, concedida por el Ministerio de Educación y Cultura, de acuerdo con la convocatoria del año 1992 (B.O.E. 20-11-92) de Ayudas para el Intercambio de Personal Investigador entre Industrias y Centros Públicos de Investigación, en el marco de Acciones de Formación de Personal Investigador. Dicho intercambio se ha llevado a cabo gracias a la inestimable colaboración de la Empresa Catering Almería, S.L. (Almería) y Catering Casa Tomás, S.A. (Cartagena), a cuyos miembros en general, y a su Dra. de Investigación, Dña. Ana Belén Montejano Magro, en particular, agradecemos el apoyo y confianza depositada en nuestro grupo de trabajo.





*A mis padres*



*Todo gran empeño  
parte de dentro.*

*EUDORA WELTY*



*Ha llegado, al fin, el momento tan esperado: la finalización de mi Tesis Doctoral, que, después de todos estos años, tanto se lleva consigo...*

*Es difícil expresar en pocas palabras lo vivido durante este tiempo, pues han sido muchas las experiencias. Sin duda, os aseguro, que todas y cada una de ellas me han ayudado a ser más persona.*

*Quisiera poder plasmar en este “típico” apartado mi agradecimiento más sincero a tanta gente que, de un modo u otro, han compartido conmigo estos años. Es posible que se me olvide alguna por despiste, no porque no haya hecho méritos para ser recordada. En general y por ello, gracias a todos.*

*En primer lugar, quiero agradecer el apoyo y amistad que he encontrado en todos los que día a día habéis convivido y “aguantado” conmigo durante esta etapa: los del Instituto. ¡Cuántos ratos inolvidables hemos pasado en esta “nuestra segunda casa”!: cafelitos con pan y aceite “mojao”, que han hecho más llevadero el trabajo de la mañana, cañitas, cenas y “raticos de marchilla” que han permitido unirnos y crear un buen ambiente entre nosotros.*

*A mis queridos y “sufridos” Directores, Emilio y Mariano: gracias, en primer lugar, por incorporarme en vuestro grupo de investigación, confiando en mí en todo momento. Gracias también por todas vuestras enseñanzas, con las que me habéis transmitido la ilusión por “lo científico”. ¡Es asombrosa la profesionalidad que día a día demostráis!. Pero principalmente, quiero agradecer vuestra cercanía y disponibilidad, tanto en los buenos momentos como en los más difíciles, en los que habéis mostrado un sabio y prudente silencio, soportando con serenidad “mis nervios”.*

*Al Profesor Matáix, Director del Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos, le agradezco la confianza depositada en mí desde mi llegada al mismo. Gracias por permitir que formase parte del Proyecto de Evaluación del Estado Nutricional de la Comunidad Autónoma Andaluza, que tanto supuso para mí; por brindarme la oportunidad de trabajar en la Clínica Incosol de Marbella, de la que tanto recibí. Y sobre todo, gracias por su ayuda a nivel personal.*

*A Jesús, por tu cariñoso apoyo y por estar siempre dispuesto a ayudar en lo que haga falta, sobre todo con los “ordenatas”.*

*A Angel Gil, porque con gran acierto haces perfectamente compatibles tu calidad humana con tu talla profesional.*

*A Magdalena, por tu labor al frente de la Escuela de Nutrición, durante estos años.*

*A “mi dúo”, al que tanto debo y que tanto ha hecho por mí: MD y Chiqui. ¿Cuántos ratos me habéis llegado a dedicar? ¿Cuánto cariño y comprensión? Habéis estado “al pie del cañón” de tal forma que no encuentro las palabras oportunas para expresar lo que quiero. Gracias por tenderme siempre esa mano y por vuestra sincera amistad. Y de manera muy especial, quiero agradecerle, MD, tu permanente entrega en estos últimos meses tan duros de*

*Tesis; con tu ánimo, apoyo y servicio constantes has hecho tanto... y tan bueno... Siempre te recordaré como “mi angelito de la guarda”.*

*A Dolo, por la clase y corrección que caracterizan todo lo que haces y que siempre he admirado. Gracias por tu apoyo incondicional y por estar a mi lado cuando te he necesitado.*

*A Mayka, por tu constante empeño desde siempre en que esto saliera, por tu ayuda desinteresada en cualquier momento, y ante todo, por preocuparte sinceramente de mí.*

*A Pepe, con el que me inicié en el laboratorio y del que tanto aprendí.*

*A Julio, por todo lo compartido, pues juntos dimos los primeros “pasitos” en el Departamento.*

*A “Susanica”. Nuestra amistad ha sido fruto de momentos muy especiales, que han conseguido cimentarla. Gracias por tener ese carácter tan afable y por estar siempre ahí. Cuenta conmigo.*

*A M<sup>a</sup> Cruz, tan querida por todos por tu buen humor. Con esa espontaneidad propia de ti haces que todo sea mucho más agradable. Gracias por tu amistad sincera.*

*A “mis niñas del Estudio”: M<sup>a</sup> José (la Honda), Clara y Marisa. Podríamos haber escrito un libro de anécdotas y experiencias ¿verdad?. Para nosotras se queda todo lo que supuso ese tiempo, que no olvidaremos jamás. Honda. ¿Qué te digo? Ya lo sabes. Adela, gracias por tu amistad a pesar de la distancia; el teléfono, en estos casos, hace un bien tremendo.*

*A Olga, estupenda compañera, siempre amiga de hacer favores y al resto de compañeros del Estudio: Carolina, Pepe, Nuria, Álvaro y Elena, por hacer posible que el ambiente de trabajo fuese tan agradable.*

*A los “chicos” del grupo: Ricardo, Paco y Rolando, por ser tan buenos compañeros y por estar siempre dispuestos a ayudar.*

*A Estrella, por tu amabilidad y saber estar. A Yolanda, noble y sencilla, cualidades con las que has conseguido nuestro cariño en tan poco tiempo, y a Kika, “el último fichaje”, por ser tan cordial.*

*A los “retoñitos” Irene y Celia, que con sus sonrisas inocentes hacen que nos olvidemos del laboratorio cuando las tenemos con nosotros. Y al que viene de camino, del que pronto podremos disfrutar.*

*A Ana, excelente persona y amiga sensata. Por tener siempre una palabra de ánimo y ese carácter tan servicial.*

*A Concha y a Elisa, nuestras queridas “secres”, que con tan buen talante nos resuelven siempre todo el papeleo. Y a Matías por tu buena disponibilidad.*

*A todos los Profesores del Departamento, por el apoyo recibido durante estos años.*

*A Rosi y a Rafael, las personas más entrañables del Departamento, que con tanta amabilidad nos ayudan y con tanto cariño nos miman.*

*Al estupendo equipo que forma parte de la Empresa Catering Almería,S.L. (Almería) y Catering Casa Tomás, S.A.(Cartegena), por haberme acogido tan bien, y por haber confiado en mi labor como nutricionista, a pesar de la gran responsabilidad que ha supuesto para mí.*

*A Paloma, Loli, M<sup>a</sup> Carmen, Cuqui y Luisa, mi “buena gente”, mis amigas de toda la vida. Por vuestra fiel amistad desde hace tantos años y por haber compartido esos ratos de ocio durante muchos fines de semana, que me ayudaban a “desconectar de la tesis”.*

*A May, por todo lo demostrado. Sobran las palabras, cuando los hechos dicen tanto.*

*A Inma, M<sup>a</sup> Carmen y Nuria, por los inolvidables años de convivencia entre las cuatro, que sellaron nuestra amistad. A Lupe, por tu constante apoyo.*

*A Meli, persona excepcional. Las palabras no alcanzan a expresar lo que ha supuesto conocerte. Sin tu especial apoyo no hubiese podido llegar hasta aquí. ¡Qué talante...! Adoración, gracias por tu importante ayuda durante este tiempo. Que vuestra profesionalidad siga dando sus frutos.*

*A toda mi familia, a la que tanto quiero. Gracias por todo lo que he recibido de vosotros. En especial, a “mi abuelica” Carmela, por ser como eres, tan cercana y encantadora, y a ti, tita Ángeles, por tu ejemplar fuerza interior, con la que me has enseñado más de lo que crees.*

*A ti, prima Montse ¡qué te puedo decir si llevamos toda una vida juntas, llena de estupidas vivencias! Gracias por estar siempre ahí y compartir tanto bueno conmigo.*

*Pero de manera muy especial quiero dedicar el esfuerzo que ha conllevado este trabajo a las personas más importantes en mi vida: mis padres. De vosotros podría escribir otra Tesis, pero en ésta, vuestra actitud no aceptaría discusión alguna y la conclusión estaría bien clara: mucho amor. Gracias por dedicar cada instante de vuestra vida a quererme.*





## ABREVIATURAS

<b>AA</b>	Ácido araquidónico
<b>ACAT</b>	Acíl-colesterol-acil-transferasa
<b>Ach</b>	Acetilcolina
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>ADP</b>	Adenosín-difosfato
<b>AMP</b>	Adenosín-monofosfato
<b>AMPc</b>	Adenosín-monofosfato-cíclico
<b>ApoB100</b>	Apoproteína B100
<b>ApoB48</b>	Apoproteína B48
<b>ApoE</b>	Apoproteína E
<b>ARNm</b>	Ácido ribonucleico mensajero
<b>ATP</b>	Adenosín-trifosfato
<b>ATPasa</b>	Adenosín-trifosfatasa
<b>CCK</b>	Colecistokinina
<b>LCAT</b>	Lecitín-colesterol-acil-transferasa
<b>CT</b>	Colesterol total
<b>DAG</b>	Diacilglicerol
<b>DHA</b>	Ácido docosahexaenoico
<b>EPA</b>	Ácido eicosapentaenoico
<b>FL</b>	Fosfolípidos
<b>FLC</b>	Fosfolipasa C
<b>FLD</b>	Fosfolipasa D
<b>GMPc</b>	Guanosín-monofosfato-cíclico
<b>HDL</b>	Lipoproteína de alta densidad
<b>HMG-CoA-reductasa</b>	Hidroxi-metil-glutaril-coenzima A-reductasa
<b>IDL</b>	Lipoproteína de densidad intermedia
<b>IP<sub>3</sub></b>	Inositol-trifosfato
<b>IP<sub>4</sub></b>	Inositol-tetrafosfato
<b>LDL</b>	Lipoproteína de baja densidad

<b>Lp(a)</b>	Lipoproteína (a)
<b>MUFA</b>	Ácidos grasos monoinsaturados
<b>PIP<sub>2</sub></b>	Fosfoinositol-bifosfato
<b>PKC</b>	Proteínkinasa C
<b>PP</b>	Polipéptido pancreático
<b>PUFA</b>	Ácidos grasos poliinsaturados
<b>PUFA (n-3)</b>	Ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3
<b>PUFA (n-6)</b>	Ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6
<b>PUFA&gt;18C (n-3)</b>	Ácidos grasos poliinsaturados mayores de 18 átomos de carbono de la serie n-3
<b>PUFA&gt;18C (n-6)</b>	Ácidos grasos poliinsaturados mayores de 18 átomos de carbono de la serie n-6
<b>PYY</b>	Péptido tirosina-tirosina
<b>QM</b>	Quilomicrones
<b>RER</b>	Retículo endoplasmático rugoso
<b>SFA</b>	Ácidos grasos saturados
<b>TCL</b>	Triglicéridos de cadena larga
<b>TCM</b>	Triglicéridos de cadena media
<b>TG</b>	Triglicéridos
<b>UFA</b>	Ácidos grasos insaturados
<b>UI</b>	Índice de insaturación
<b>VIP</b>	Péptido intestinal vasoactivo
<b>VLDL</b>	Lipoproteína de muy baja densidad

<b>ÍNDICE GENERAL</b>	<b>Página</b>
<b>I.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
<b>II.- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS</b>	<b>29</b>
<b>1.-GRASA DE LA DIETA E HIPERCOLESTEROLEMIA</b>	<b>31</b>
<b>1.1.-CANTIDAD DE GRASA</b>	<b>32</b>
<b>1.2.-COLESTEROL</b>	<b>35</b>
<b>1.3.-ESTEROLES VEGETALES</b>	<b>38</b>
<b>1.4.-TIPO DE GRASA (ÁCIDOS GRASOS)</b>	<b>38</b>
<b>1.4.1.-EFECTO DE LA LONGITUD DE CADENA</b>	<b>38</b>
<b>1.4.2.-EFECTO DEL GRADO DE INSATURACIÓN</b>	<b>39</b>
ÁCIDOS GRASOS SATURADOS (SFA)	<b>40</b>
ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS (UFA)	<b>44</b>
ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS (PUFA)	<b>45</b>
Ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (PUFA n-3)	<b>46</b>
Ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 (PUFA n-6)	<b>47</b>
ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS (MUFA)	<b>48</b>
<b>1.4.3.-EFECTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA DIETA SOBRE LA LIPOPROTEÍNA (a) (Lp(a))</b>	<b>50</b>
<b>1.4.4.-INFLUENCIA DE LOS ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA DIETA SOBRE LA SUSCEPTIBILIDAD A LA OXIDACIÓN</b>	<b>52</b>
<b>1.4.5.-INFLUENCIA DE LA HIDROGENACIÓN DE LA GRASA (ÁCIDOS GRASOS TRANS) SOBRE LA SUSCEPTIBILIDAD A LA OXIDACIÓN</b>	<b>53</b>
<b>1.5.-ANTIOXIDANTES</b>	<b>54</b>
<b>1.5.1.-VITAMINAS LIPOSOLUBLES</b>	<b>56</b>
VITAMINA A	<b>56</b>
VITAMINA D	<b>58</b>
VITAMINA E	<b>59</b>
<b>1.5.2.-OTROS COMPUESTOS ANTIOXIDANTES</b>	<b>61</b>
VITAMINA C	<b>61</b>
COENZIMA Q <sub>10</sub> (COQ <sub>10</sub> )	<b>63</b>
SELENIO	<b>64</b>
<b>2.-MODELOS EXPERIMENTALES DE ATROSCLEROSIS Y DIETAS UTILIZADAS</b>	<b>66</b>
<b>3.-ATEROSCLEROSIS EXPERIMENTAL. MODIFICACIONES EN DISTINTOS TEJIDOS CORPORALES</b>	<b>71</b>
<b>3.1.-MODIFICACIONES EN EL SISTEMA CARDIOVASCULAR</b>	<b>71</b>
<b>3.2.-MODIFICACIONES EN EL SISTEMA INMUNE</b>	<b>72</b>
<b>3.3.-MODIFICACIONES EN EL SISTEMA RENAL</b>	<b>73</b>
<b>3.4.-MODIFICACIONES EN EL SISTEMA NERVIOSO</b>	<b>75</b>

<b>3.5.-MODIFICACIONES EN EL TEJIDO ADIPOSO</b>	<b>76</b>
<b>3.6.-MODIFICACIONES EN EL TEJIDO HEPÁTICO</b>	<b>76</b>
<b>3.7.-MODIFICACIONES EN EL SISTEMA BILIAR</b>	<b>80</b>
<b>3.8.-MODIFICACIONES EN EL TEJIDO PANCREÁTICO</b>	<b>81</b>
<b>3.9.-FENÓMENOS DE PROLIFERACIÓN CELULAR (CÁNCER) ASOCIADOS A HIPERCOLESTEROLEMIA</b>	<b>82</b>
<b>4.-GRASA DE LA DIETA Y MEMBRANAS BIOLÓGICAS</b>	<b>83</b>
<b>4.1.-COMPOSICIÓN DE LAS MEMBRANAS CELULARES</b>	<b>83</b>
<i>4.1.1.-BICAPA LIPÍDICA</i>	<b>83</b>
<i>4.1.2.-PROTEÍNAS DE MEMBRANA</i>	<b>90</b>
<b>4.2.-FUNCIONES DE LAS MEMBRANAS CELULARES</b>	<b>91</b>
<b>4.3.-ADAPTACIÓN DE LAS MEMBRANAS CELULARES A LA GRASA DE LA DIETA</b>	<b>92</b>
<i>4.3.1.-ADAPTACIÓN DE LAS MEMBRANAS A LA CANTIDAD DE GRASA DE LA DIETA</i>	<b>92</b>
<i>4.3.2.-ADAPTACIÓN DE LAS MEMBRANAS AL COLESTEROL DE LA DIETA</i>	<b>93</b>
<i>4.3.3.-ADAPTACIÓN DE LAS MEMBRANAS AL TIPO DE GRASA DE LA DIETA</i>	<b>94</b>
Adaptación de las membranas a los SFA	<b>98</b>
Adaptación de las membranas a los MUFA	<b>99</b>
Adaptación de las membranas a los PUFA	<b>100</b>
<i>Adaptación de las membranas a los PUFA n-3</i>	<b>101</b>
<i>Adaptación de las membranas a los PUFA n-6</i>	<b>102</b>
Adaptación de las membranas a los ácidos grasos <i>trans</i>	<b>103</b>
<b>4.4.-MODIFICACIONES EN LA FUNCIONALIDAD DE LAS MEMBRANAS CELULARES POR CAMBIOS EN SU COMPOSICIÓN</b>	<b>104</b>
<i>4.4.1.-EFECTO DE LA CANTIDAD DE GRASA DE LA DIETA</i>	<b>105</b>
<i>4.4.2.-EFECTO DEL COLESTEROL DE LA DIETA</i>	<b>107</b>
<i>4.4.3.-EFECTO DEL TIPO DE GRASA DE LA DIETA</i>	<b>110</b>
Influencia de los SFA	<b>112</b>
Influencia de los MUFA	<b>113</b>
Influencia de los PUFA	<b>116</b>
<i>Influencia de los PUFA n-3</i>	<b>118</b>
<i>Influencia de los PUFA n-6</i>	<b>119</b>
Influencia de los ácidos grasos <i>trans</i>	<b>123</b>
<b>5.-GRASA DE LA DIETA Y PÁNCREAS EXOCRINO</b>	<b>125</b>
<b>5.1.-ANATOMÍA PANCREÁTICA</b>	<b>125</b>
<b>5.2.-ORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL DEL PÁNCREAS EXOCRINO</b>	<b>127</b>
<b>5.3.- COMPOSICIÓN DE LA SECRECIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA</b>	<b>130</b>
<b>5.4.- REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA</b>	<b>133</b>
<i>5.4.1.- REGULACIÓN NERVIOSA</i>	<b>133</b>

Inervación colinérgica	134
Inervación adrenérgica	135
Inervación dopaminérgica	136
Inervación peptidérgica	137
<b>5.4.2.- REGULACIÓN HORMONAL</b>	<b>139</b>
Secretina	139
Colecistokinina (CCK)	142
Polipéptido pancreático (PP)	145
Péptido tirosina tirosina (PYY)	147
<b>5.5.-RESPUESTA PANCREÁTICA A LA COMIDA</b>	<b>149</b>
<b>5.5.1.- FASES DE LA SECRECIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA</b>	<b>150</b>
Fase cefálica	151
Fase gástrica	151
Fase intestinal	151
<i>Estimuladores de la fase intestinal</i>	<b>151</b>
Ácidos	151
Proteínas y productos de su digestión	152
Triglicéridos y productos de su digestión	153
Carbohidratos y/o oligosacáridos procedentes de su digestión	153
Estado físico de la comida	154
<b>5.6.-MODIFICACIONES EN LA COMPOSICIÓN DE LAS MEMBRANAS PANCREÁTICAS POR EFECTO DE LA DIETA</b>	<b>154</b>
<b>5.7.-CAMBIOS EN EL CONTENIDO DE ENZIMAS</b>	<b>157</b>
<b>5.8.-ADAPTACIÓN PANCREÁTICA A LA COMPOSICIÓN DE LA DIETA</b>	<b>158</b>
<b>5.8.1.-CINÉTICA DE ADAPTACIÓN PANCREÁTICA</b>	<b>162</b>
<b>5.8.2.-ADAPTACIÓN PANCREÁTICA A LA GRASA DE LA DIETA</b>	<b>164</b>
Adaptación a la cantidad de grasa	165
Adaptación al tipo de grasa: aspectos cualitativos	168
<i>Efecto de la longitud de cadena de los ácidos grasos</i>	168
<i>Efecto del grado de insaturación de los ácidos grasos</i>	171
<b>5.8.3.-MEDIADORES DE ADAPTACIÓN DE LA SECRECIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA</b>	<b>174</b>
Papel modulador de distintos péptidos	174
<i>Adaptación a los carbohidratos de la dieta</i>	174
<i>Adaptación a la proteína de la dieta</i>	174
<i>Adaptación a la grasa de la dieta</i>	175
Papel modulador de las enzimas	175
Papel modulador de la bilis	176
<b>6.-PÁNCREAS Y ATROSCLEROSIS: INFLUENCIA DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA SOBRE LA FUNCIONALIDAD PANCREÁTICA</b>	<b>179</b>
<b>6.1.-EFECTO DE LA ATROSCLEROSIS SOBRE LA ACTIVIDAD Y SECRECIÓN DE ENZIMAS PANCREÁTICAS</b>	<b>182</b>

6.2.-EFECTO DE LA ATEROSCLEROSIS SOBRE EL PÁNCREAS ENDOCRINO	184
6.3.-PAPEL DEL ÓXIDO NÍTRICO EN LA ATEROSCLEROSIS	184
6.4.-ÓXIDO NÍTRICO Y SECRECIÓN PANCREÁTICA	185
7.-PÁNCREAS EXOCRINO Y MEMBRANAS CELULARES	187
7.1.-ASPECTOS ESTRUCTURALES DE LAS MEMBRANAS PANCREÁTICAS Y REPERCUSIONES FUNCIONALES	187
7.2.-MECANISMOS DE ACOPLAMIENTO ESTÍMULO-SECRECIÓN EN LAS CÉLULAS ACINARES	190
7.2.1.-PRINCIPALES VÍAS DE TRANSDUCCIÓN EN LOS MECANISMOS DE ACOPLAMIENTO ESTÍMULO-SECRECIÓN DEL PÁNCREAS EXOCRINO	191
7.2.2.-REGULACIÓN DE LAS SEÑALES DE TRANSDUCCIÓN POR LOS LÍPIDOS DE MEMBRANA	195
Ácidos grasos de membrana y señales de transducción	195
Colesterol de membrana y señales de transducción	197
Implicación de otros lípidos de membrana en las señales de transducción	198
7.2.3.-OTROS ASPECTOS RELACIONADOS CON LA MEMBRANA ACINAR	198
<b>III.- MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>201</b>
<b>1.-MATERIAL DE LABORATORIO</b>	<b>203</b>
1.1.-MATERIAL QUIRÚRGICO	203
1.2.-MATERIAL DE VIDRIO	203
1.3.-MATERIAL GENERAL	204
<b>2.-APARATOS</b>	<b>204</b>
2.1.-APARATOS DE USO GENERAL	204
2.2.-APARATOS DE USO ESPECÍFICO	206
2.2.1.-HOMOGENIZACIÓN	206
2.2.2.-CENTRIFUGACIÓN	206
2.2.3.-ESPECTROFOTOMETRÍA	206
2.2.4.-CROMATOGRAFÍA DE GASES	207
2.2.5.-TITRIMETRÍA	207
<b>3.-MATERIAL BIOLÓGICO</b>	<b>210</b>
3.1.-ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	210
3.2.-DIETAS	211
3.2.1.-DIETA ESTÁNDAR	211
3.2.2.-DIETA ATEROGÉNICA	212
3.2.3.-DIETAS DE RECUPERACIÓN	213
<b>4.-DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	<b>214</b>

<b>5.-SACRIFICIO DE ANIMALES Y OBTENCIÓN DE ÓRGANOS</b>	<b>219</b>
<b>6.-LISTADO DE REACTIVOS EMPLEADOS</b>	<b>221</b>
6.1.-ACTIVIDAD AMILÁSICA	221
6.2.-ACTIVIDAD TRÍPSICA	221
6.3.-ACTIVIDAD QUIMIOTRÍPSICA	221
6.4.-ACTIVIDADES LIPÁSICA Y COLIPÁSICA	222
6.5.-PROTEÍNA TOTAL	222
6.6.-TRANSESTERIFICACIÓN Y METILACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS	222
6.7.-COLESTEROL TOTAL	223
<b>7.-DETERMINACIONES ANALÍTICAS</b>	<b>223</b>
7.1.-ACTIVIDADES DE ENZIMAS PANCREÁTICAS	223
7.1.1.-AMILASA (EC 3.2.1.1.)	223
7.1.2.-TRIPSINA (EC 3.4.21.4.) Y QUIMIOTRIPSINA (EC 3.4.21.1.)	224
7.1.3.-LIPASA (EC 3.1.1.3.) Y COLIPASA	226
7.1.4.-PROTEÍNA TOTAL	228
7.2.-CONTENIDO EN COLESTEROL TOTAL	228
7.3.-PERFIL LIPÍDICO DE MEMBRANAS PANCREÁTICAS	230
7.3.1.-OBTENCIÓN DE FRACCIONES CELULARES	230
7.3.2.-EXTRACCIÓN LIPÍDICA Y METILACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS	231
7.3.3.-CROMATOGRAFÍA DE GASES DE LOS ÉSTERES METÍLICOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS	232
<b>8.-TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS</b>	<b>233</b>
<b>IV.- RESULTADOS</b>	<b>235</b>
1.-MODIFICACIONES PONDERALES POR EFECTO DE LA DIETA	237
2.-ACTIVIDAD DE ENZIMAS PANCREÁTICAS	240
2.1.-ACTIVIDAD (U/g páncreas)	240
2.2.-ACTIVIDAD TOTAL (U/páncreas)	244
2.3.-ACTIVIDAD ESPECÍFICA (U/ mg proteína)	248
2.4.-PROTEÍNA TOTAL (mg/g páncreas)	253
3.-COLESTEROL TOTAL	253
4.-PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN MEMBRANAS PLASMÁTICAS Y MITOCONDRIALES PANCREÁTICAS	257
5.-PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN MEMBRANAS DE MICROSOMAS PANCREÁTICOS	279

<b>V.- DISCUSIÓN</b>	<b>301</b>
<b>1.-PESO CORPORAL</b>	<b>307</b>
<b>2.-PESO Y CONTENIDO EN PROTEÍNA Y COLESTEROL DEL PÁNCREAS</b>	<b>308</b>
<b>3.-CONTENIDO EN ENZIMAS PANCREÁTICAS</b>	<b>311</b>
<b>3.1.-EFECTOS DE LA DIETA ATEROGÉNICA SOBRE EL CONTENIDO EN ENZIMAS DEL PÁNCREAS</b>	<b>311</b>
<b>3.2.-EFECTOS DE LA INGESTA DE LOS DIFERENTES ACEITES SOBRE EL CONTENIDO EN ENZIMAS DEL PÁNCREAS, EN CONEJOS HIPERCOLESTEROLÉMICOS</b>	<b>316</b>
<b>4.-MODIFICACIONES EN LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE LAS MEMBRANAS PANCREÁTICAS</b>	<b>322</b>
<b>4.1.-INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE GRASA DE LA DIETA SOBRE LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LAS MEMBRANAS PANCREÁTICAS</b>	<b>324</b>
<b>4.2.-INFLUENCIA DEL TIPO DE GRASA DE LA DIETA SOBRE LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LAS MEMBRANAS PANCREÁTICAS</b>	<b>329</b>
<b>VI.- CONCLUSIONES</b>	<b>333</b>
<b>VII.- BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>337</b>
<b>VIII.- ANEXOS</b>	<b>407</b>
<b>1.-ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>409</b>
<b>2.-ÍNDICE DE FOTOS</b>	<b>413</b>
<b>3.-ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>415</b>



# JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS



**E**s conocida la relación existente entre la grasa de la dieta y el desarrollo de patologías degenerativas, que afectan a diversos órganos y tejidos del organismo. Las enfermedades cardiovasculares tienen una gran incidencia en el mundo occidental; este hecho, al que han contribuido las modificaciones sufridas en los hábitos alimentarios y otros factores, tales como estilo de vida, estrés, etc, ha determinado una dedicación prioritaria en investigación a las mismas. Así, existen diversos estudios que muestran que, tanto el contenido como el tipo de grasa alimentaria son determinantes importantes del estado de salud.

El principal factor contribuyente a la instauración de la patología cardiovascular, la aterosclerosis, es un proceso de carácter sistémico, por lo que afecta a distintos tejidos, entre ellos al páncreas. La ingesta de dietas elevadas en grasa y colesterol (dietas aterogénicas) es un determinante clave en el desarrollo de los procesos ateroscleróticos, sin embargo, las consecuencias que este tipo de dietas pueden ocasionar a nivel de páncreas exocrino han sido poco estudiadas.

Se sabe que, por una parte, la ingesta de dietas elevadas en colesterol provoca cambios en las membranas celulares, los cuales afectan a la funcionalidad de las mismas. Estos cambios modifican el estado de fluidez de dichas membranas. Asimismo, la grasa procedente de la dieta, en términos tanto cuantitativos como cualitativos, es capaz de ejercer un efecto similar sobre la composición de la membrana. De este modo, la dieta aterogénica, con alto contenido en ácidos grasos saturados, determina un patrón de composición de las membranas endoteliales, que influirá en la funcionalidad de las mismas, que conlleva el desarrollo de aterosclerosis.

Por otro lado, diversos estudios ponen de manifiesto que el consumo de dietas con alto contenido en grasa ejerce un claro efecto sobre el funcionamiento del páncreas exocrino,

promoviendo cambios adaptativos en el contenido y secreción de la glándula. Son numerosos los estudios que muestran la influencia de ingestas elevadas en grasa sobre la actividad y secreción de enzimas lipolíticas pancreáticas. También es apoyada científicamente la relación existente entre el grado de insaturación de los ácidos grasos aportados en la dieta y el patrón adaptativo del páncreas exocrino. Sin embargo, es escasa la investigación acerca del efecto de dietas aterogénicas, que conjuntamente presentan las dos características citadas, puesto que son altas en colesterol y en grasa saturada, sobre las modificaciones que puedan ocasionarse en la composición de las membranas pancreáticas, y, en consecuencia, de sus repercusiones a nivel funcional en la glándula, las cuales pueden afectar a la adaptación del páncreas exocrino a la grasa de la dieta.

Teniendo en cuenta los numerosos estudios que vienen demostrando la implicación del colesterol y los ácidos grasos presentes en las membranas celulares en procesos secretores mediados por exocitosis, cabe destacar la existencia de una regulación, por parte de dichos componentes, de diversas señales de transducción celular. En este sentido, los movimientos de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular implicados en la secreción de enzimas, entre otras, del páncreas exocrino, pueden verse afectados por el grado de fluidez de dichas membranas. Y puesto que, tal y como se ha dicho, la membrana celular es capaz de modificar su composición lipídica en respuesta a cambios en el contenido graso de la dieta, creemos de interés adentrarnos con este trabajo, para profundizar en un futuro cercano, en el estudio acerca de la influencia de la cantidad y tipo de grasa dietética sobre los mecanismos implicados en la síntesis y secreción de enzimas pancreáticas, asociados a modificaciones en las señales de transducción celular a nivel de membranas pancreáticas, como consecuencia de una adaptación de las mismas al contenido en grasa y colesterol de la dieta.

La línea de trabajo de nuestro grupo de investigación, perteneciente al Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos y al Departamento de Fisiología de la Universidad de Granada, se viene centrando en los últimos años en la influencia que la grasa de la dieta ejerce sobre el páncreas exocrino. Se sabe que este nutriente determina un patrón de adaptación de la glándula en el contenido y secreción enzimática. Lo que no parece estar tan claro son los mecanismos implicados en dicha adaptación. Sí está demostrado que diferentes péptidos

gastrointestinales, mediadores de la misma, así como modificaciones en la actividad de determinadas enzimas pancreáticas, se vienen asociando con el desarrollo de procesos ateroscleróticos que cursan con inflamación glandular y pancreatitis.

Por otro lado, los conocimientos acerca de la adaptación pancreática a la grasa de la dieta, aunque muy amplios en lo que se refiere a especies como la rata, el perro o el cerdo, incluso en humanos, son más escasos en conejo, siendo especie de interés, dada su capacidad de desarrollo temprano de aterosclerosis inducida por la dieta, similar a como ocurre en el hombre. De igual modo, los estudios sobre el efecto de este componente dietético a nivel de membranas pancreáticas han sido poco investigados.

En consecuencia, y a la vista de todo lo expuesto, creemos de interés y, por ello, pretendemos cumplir, los siguientes **objetivos** en este estudio:

1.- Estudiar si, en conejos, existe un patrón adaptativo de la secreción del páncreas exocrino a la grasa de la dieta, similar al descrito por nuestro grupo en carnívoros y omnívoros.

2.- Si existe esta adaptación, dar un primer paso en el estudio de los mecanismos implicados en ella, haciendo especial énfasis en la relación: composición de la grasa de la dieta y composición lipídica de las membranas celulares del páncreas exocrino, así como del contenido en enzimas de esta glándula.

3.- Conocer si la aterosclerosis inducida por la dieta afecta a la funcionalidad de la misma.



# ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

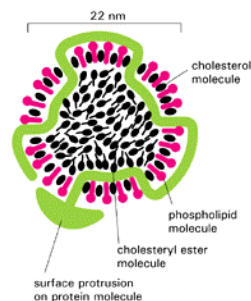




## 1.- GRASA DE LA DIETA E HIPERCOLESTEROLEMIA

La **hipercolesterolemia** es el término aplicado a una de las enfermedades encuadradas en el marco de las hiperlipemias, junto con hipertrigliceridemia e hiperlipemia combinada. Generalmente, se habla de dislipemias cuando existe una alteración en el metabolismo lipídico a nivel plasmático. Cuando Fredrickson realizó en 1967 la clasificación de las hiperlipidemias, las consideró como patologías asociadas a un perfil anormal de las lipoproteínas plasmáticas. Si se presentan niveles elevados de lípidos plasmáticos asociados a dichas lipoproteínas (colesterol total y/o triglicéridos > 200 mg/l) nos encontramos ante un estado hiperlipémico, con el consiguiente riesgo aterogénico (Matáix, et al., 1995).

Previamente a los numerosos estudios que en los últimos años han venido realizándose, acerca del mecanismo exacto por el que se desarrolla la placa de ateroma a partir del colesterol, ya existían evidencias de su procedencia plasmática, fundamentalmente a expensas de colesterol de LDL (lipoproteína de baja densidad) (Ross, 1986). Así pues, de las lipoproteínas que transportan los lípidos en sangre, la LDL se considera la más aterogénica (Figura 1). La VLDL (lipoproteína de muy baja densidad) transporta principalmente triglicéridos y un 10-15% de colesterol y su importancia como factor de riesgo es menor cuando son aceptables los niveles de colesterol total (CT) y de HDL (lipoproteína de alta densidad). La HDL transporta el 20-25%, procedente de los tejidos al hígado, por lo que se asocia su presencia al descenso del riesgo aterogénico (Castelli, et al., 1986). Un descenso en los niveles de apoproteína A-I y el incremento de apoproteína B están relacionados con un mayor riesgo (Havel, et al., 1987). La lipoproteína (a) Lp(a) se considera factor de riesgo ateroesclerótico independiente (Loscalzo, 1990).



**Figura 1:** Partícula de LDL (lipoproteína de baja densidad).

Cada partícula esférica de LDL se representa como una masa de  $3 \times 10^6$  daltons. Contiene un corazón de unas 1500 moléculas de colesterol esterificadas con ácidos grasos de cadena larga, que están rodeados por una monocapa compuesta de unos 800 fosfolípidos y unas 500 moléculas de colesterol no esterificado. Una sencilla molécula proteica de alrededor de 500.000 daltons organiza la partícula y media la unión específica de LDL a proteínas receptoras de superficie celular.

Numerosos datos epidemiológicos revelan la existencia de una implicación multifactorial de diversos elementos constituyentes de la dieta en la aparición y desarrollo de hipercolesterolemia y aterosclerosis, pero es, sin duda, la *grasa* alimentaria la que juega un papel primordial en dichas alteraciones patológicas.

La importancia de la grasa de la dieta sobre los niveles de colesterol en plasma es discutida, en el sentido de que se han de considerar distintos aspectos tales como cantidad total, naturaleza y tipo de ácidos grasos presentes u otros componentes asociados a la misma (Watkins, et al., 1996). Según Fernández et al. (1991), cantidad y calidad intervienen de manera independiente en la regulación del metabolismo del colesterol y las lipoproteínas plasmáticas, en el cobaya. En términos generales, la cantidad y calidad de la grasa de la dieta poseen un efecto significativo sobre el contenido en colesterol de las lipoproteínas plasmáticas, perfil de dichas lipoproteínas, composición de LDL, número de receptores apoB/E hepáticos, concentración de colesterol hepático, actividad HMGCoA reductasa y unión de HDL a membranas.

### **1.1.-CANTIDAD DE GRASA**

La cantidad de grasa de la dieta es importante como factor determinante de la hipercolesterolemia, pues está directamente relacionada con el flujo de quilomicrones (QM) hepáticos remanentes, ya que regula la formación de los mismos en la mucosa intestinal. La circulación de esta lipoproteína en la sangre es proporcional a la cantidad de grasa consumida en la dieta, de modo que una comida con elevado contenido en grasa se traduce en la producción de

un gran número de QM remanentes, que es proporcional al número de QM sintetizados, considerándose dichos QM remanentes aterogénicos.

La teoría de que una elevada proporción de grasa en la dieta, en relación con otros nutrientes, promueve la aparición de enfermedad, procede de estudios llevados a cabo tanto en animales de experimentación como en humanos. No obstante, esta teoría ha resultado difícil de demostrar en estudios prospectivos de ingestas en humanos, pues es escasa la evidencia de que un alto porcentaje de grasa en la dieta predisponga a la enfermedad (Grundy, S.M., 1999).

Así pues, los estudios existentes acerca de la relación cantidad de grasa de la dieta-niveles de colesterol plasmático muestran resultados contradictorios, aunque todo parece indicar que la cantidad no es tan importante como el tipo de grasa ingerida. Sin embargo, Luhman, et al. (1992) atribuyen mayor importancia a la cantidad.

Estudios realizados en sujetos sanos muestran que la ingesta de dietas con fórmula definida, bajas (9% del contenido calórico total) y muy bajas (1%) en grasa, reduce los niveles de HDL colesterol en un 40%, e incrementa tanto la relación CT/HDL-colesterol así como los valores de TG séricos en un 20 y 100%, respectivamente, al ser comparada con la ingesta de una dieta convencional (42% de las kcalorías totales en forma de grasa). Sin embargo, el consumo de dietas moderadas en grasa (32%) procedente de aceite de maíz (PUFA) disminuye el colesterol en un 25% y la relación CT/HDL-colesterol en un 13%, lo que indica que una dieta moderada en grasa, con una relación elevada PUFA/SFA, ejerce efectos más favorables sobre los lípidos séricos que dietas bajas en grasa (Snook, et al., 1985).

Numerosos estudios observan un incremento en los niveles de colesterol plasmático y de enfermedad cardiovascular (ECV), como consecuencia de la ingesta de una dieta similar a la americana, con aumento en el consumo de grasa total a expensas de los hidratos de carbono.

La sustitución de una dieta baja en grasa (19%) y alta en fibra (4.6 g/MJ) por otra alta en grasa (41%) y con menor contenido en fibra (2.0 g /MJ) disminuye los niveles de CT, HDL y LDL colesterol entre un 17-20% en humanos, lo que indica un efecto beneficioso de reducción

de la hipercolesterolemia con la dieta baja en grasa, pero que es debido en parte, a la presencia de un alto contenido en fibra, más que al efecto de la grasa en sí (Clevidence, et al., 1992).

Según estudios realizados por Lichtenstein, et al. (1994,b), el consumo a corto plazo de una dieta baja en grasa afecta a las concentraciones de lípidos plasmáticos de pacientes hipercolesterolémicos, sólo cuando se acompaña de una disminución de peso por parte de los mismos, o sea, cuando la ingesta calórica total es disminuida.

Sin embargo, Nelson, et al. (1995) no observan diferencias significativas en los niveles plasmáticos de HDL o LDL colesterol tras la ingesta de dietas altas (39%) o bajas (22%) en grasa, cuando ambas presentan una composición muy similar en ácidos grasos. Los niveles de TG y, en consecuencia, los de VLDL plasmática, sí incrementan de manera significativa tras la ingesta de las primeras, respecto de las segundas. Asimismo, el contenido en ácido linoleico de plasma y el número de plaquetas y de células sanguíneas disminuye significativamente en el grupo alimentado con la dieta baja en grasa. Estos resultados indican reducciones en los niveles de determinados lípidos plasmáticos cuando la población ingiere dietas bajas en grasa, pero parece ser debido a cambios en la composición de ácidos grasos de la dieta, no a una reducción en el aporte calórico graso.

Dubois, et al. (1998) muestran que, en humanos, el incremento en la cantidad de grasa ingerida a través de la dieta, dentro de un rango comprendido entre 0-50 g, se acompaña de un aumento en los niveles de QM y TG séricos e induce cambios marcados en las lipoproteínas plasmáticas postprandiales. Sin embargo, se observa un valor umbral de 15 g para el cual la grasa no ejerce efecto alguno sobre la lipemia.

Se ha propuesto en niños, que la ingesta de dietas restringidas en grasa previene el desarrollo de aterosclerosis cuando son adultos. Sin embargo, este hecho no ha sido demostrado experimentalmente (Lifshitz, and Tarim, 1996). Los efectos de estas dietas bajas en grasas y en colesterol sobre los niveles de lípidos y lipoproteínas séricas son de menor magnitud en niños que en adultos. Además, se corre el riesgo de déficits de nutrientes esenciales, entre otros, calcio, zinc, magnesio, fósforo, vitamina E, B<sub>12</sub>, tiamina, niacina o riboflavina (Olson, 2000).

Estudios con ratones transgénicos indican que una dieta elevada en grasa y en colesterol incrementa el contenido en colesterol de las HDL y el grado de producción de apoA-I, debido a un mecanismo que implica la regulación de la traducción del ARNm de la apoA-I. Ahora bien, el incremento en HDL colesterol inducido por la dieta alta en grasa es defensivo, por lo que no debe ser interpretado como un cambio deseable en la dieta (Wolf, 1996).

Un estudio longitudinal, efectuado a lo largo de 9 años en una población americana constituida por ancianos sanos de ambos sexos, que ingirieron bajos niveles de grasa total, así como de PUFA, SFA y colesterol, muestra valores bajos de CT, LDL y HDL plasmáticos (Garry, et al., 1992).

Las recomendaciones actuales para la población española sana indican un aporte del 30% de la ingesta calórica diaria como grasa total, pudiendo incrementarla hasta un 35% si la principal fuente grasa empleada es el aceite de oliva (Aranceta, et al., 1995).

## **1.2.-COLESTEROL**

La importancia del colesterol de la dieta sobre la incidencia de hipercolesterolemia en la población ha venido siendo un tema de debate científico (McNamara, 1995).

Una vez ingerido, el colesterol es transportado también vía QM a través del plasma hasta el hígado, donde es añadido al colesterol sintetizado endógenamente. Al poseer un núcleo con estructura en anillo que no puede ser degradada por los tejidos del organismo, la molécula de colesterol ha de ser excretada o almacenada. Solamente un 40% del colesterol de la dieta es absorbido y el 60% remanente es eliminado con las heces, vía biliar, como ácidos biliares sintetizados en el hígado a partir de él. Esto ocurre de manera parcial, ya que existe reabsorción y circulación enterohepática, por lo que el hígado capta la mayor parte de lo excretado en bilis. Por otra parte, el mecanismo de inhibición de síntesis de colesterol endógeno (*feed-back* negativo) sólo tiene lugar en humanos parcialmente, incluso cuando es ingerida una gran cantidad de colesterol en la dieta.

El colesterol de la dieta no interviene directamente en la formación de lipoproteínas a nivel hepático (VLDL, de las que derivan las LDL), pero puede, no obstante, afectar profundamente la biosíntesis hepática de colesterol y el catabolismo de las LDL, a través de la síntesis de receptores de LDL en hígado. En particular, un incremento de colesterol en las células hepáticas puede disminuir el número de receptores LDL y, en consecuencia, causar un incremento en el nivel de LDL plasmática. De manera inversa, un descenso drástico en la ingesta de colesterol puede incrementar el número de receptores LDL en hígado, mejorar el transporte de LDL y, por tanto, disminuir el nivel de LDL en plasma.

El análisis de resultados obtenidos en las últimas tres décadas, a partir de estudios sobre ingesta de colesterol en una población de 2750 pacientes indica que, para la mayoría de individuos, cambios modestos en el aporte de colesterol en la dieta ejercen escasas variaciones, si es que existen, en los niveles de lipoproteínas plasmáticas. Así, un cambio aproximado de 100 mg/día de colesterol alimentario ocasiona modificaciones en el colesterol plasmático de 0,07 mmol/l (2.5 mg/dl). (McNamara, 1995).

Richter (1995) apuesta por un menor aporte de colesterol, en el contexto de una dieta balanceada, como base del tratamiento con mayor éxito en diversas formas de hipercolesterolemia. En algunos casos, las modificaciones dietéticas pueden originar descensos de hasta un 25% de LDL-colesterol. Las recomendaciones actuales de colesterol para individuos sanos en la población española se sitúa en <300 mg de colesterol/día (Aranceta, et al., 1995).

1- QM y remanentes incrementados

2- Incremento del colesterol hepático, con los siguientes efectos:

*-Disminución de la biosíntesis de colesterol*

*-Compensación parcial con aumento de la excreción de colesterol biliar y de ácidos biliares, disminuyendo el contenido de colesterol hepático*

*-Síntesis disminuida de receptores de LDL*

*-Incremento de LDL en plasma*

3- Aumento del depósito de colesterol en la pared arterial y aterosclerosis debida a los niveles plasmáticos incrementados de LDL

**Tabla 1:** Incremento en los niveles de LDL colesterol a partir del colesterol de la dieta.

Como se observa anteriormente, en la Tabla 1 se describen los mecanismos por los cuales se desarrolla la hipercolesterolemia experimental, a partir del colesterol de la dieta.

Por tanto, el efecto más importante del colesterol de la dieta es un incremento en LDL-c, pero este efecto puede ser modificado por el tipo y cantidad de ácidos grasos presentes en la misma, de manera que los ácidos grasos saturados (SFA) potencian este efecto, mientras los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) lo disminuyen (Schonfeld, et al., 1982; Woollet, et al., 1992). No es conocido si los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) modifican el efecto del colesterol de la dieta sobre los niveles de LDL-c plasmático. Del mismo modo, Lichtenstein, et al. (1994a) manifiestan que el colesterol de la dieta ejerce un efecto hipercolesterolémico en sujetos con niveles de LDL > 130 mg/dL, cuando se acompaña de cantidades elevadas de PUFA y SFA en la misma.

Resultados recientes demuestran que la adición de cantidades moderadas de colesterol (115 mg/día) a dietas enriquecidas en sebo de buey (SFA) o en aceite de maíz (PUFA) ocasiona un incremento en la susceptibilidad de LDL a la oxidación, con el consiguiente riesgo aterogénico (Schwab, et al., 2000).

Rudel (1997) observa la aparición de hipercolesterolemia en diferentes especies de primates no humanos, tras la administración de una dieta rica en colesterol, pero los niveles y tamaño de LDL y HDL, así como el desarrollo de aterosclerosis, difieren según la especie considerada. Se indica con ello una posible influencia de los factores genéticos en la respuesta al colesterol alimentario. La distribución del colesterol en las partículas lipoproteicas, tamaño de la partícula LDL y concentración de HDL colesterol son características únicas de cada especie. Por tanto, el factor genético no debe ser obviado, a nivel de regulación del metabolismo lipoproteico, en la respuesta individual al colesterol de la dieta.

Diversos estudios apuntan otros factores independientes de la dieta, que parecen ser causantes de niveles elevados de colesterol plasmático, como consecuencia, bien de una disminución en la actividad del receptor de LDL, como es el factor "edad", u otros responsables de un descenso en la síntesis de dichos receptores, como ocurre en la menopausia, ya que los

estrógenos son estimuladores de dicha síntesis. Son factores que no deben ser ignorados (Grundy, 1991).

### **1.3.-ESTEROLES VEGETALES**

El papel de los esteroides obtenidos de las plantas cuando son ingeridos a través de la dieta es discutido, en relación con su influencia sobre el metabolismo del colesterol. Numerosos autores ponen de manifiesto el efecto beneficioso del sitostanol frente a la hipercolesterolemia (Heinemann, et al., 1986; Becker, et al., 1993; Schieken, 1994; Vanhanen, et al., 1994; Miettinen, et al., 1995; Weststrate and Meijer, 1998; Gylling, et al., 1999). En pacientes colecistectomizados, se observa una inhibición efectiva de la absorción de colesterol y una disminución de la concentración de colesterol sérico, tras una ingesta diaria de 2 g de ésteres de estano (Miettinen, et al., 2000).

Hallikainen and Uusitupa (1999) muestran el efecto hipocolesterolemiante de los ésteres de estanol, administrados en el contexto de una dieta baja en grasa y colesterol, al provocar una reducción adicional y significativa de las concentraciones de colesterol sérico a la obtenida con una dieta baja en grasa únicamente. Además, este efecto es dosis-dependiente (Hallikainen, et al., 2000). Denke (1995) indica, sin embargo, que la eficacia de sitostanol puede verse atenuada cuando la dieta es baja en colesterol.

### **1.4.-TIPO DE GRASA: ACIDOS GRASOS**

#### ***1.4.1.-EFECTO DE LA LONGITUD DE CADENA***

Diversos estudios muestran resultados divergentes en lo que concierne a la influencia de los triglicéridos de cadena media (TCM) (de C8:0 a C10:0), sobre el metabolismo lipoproteico. A pesar de haberse descrito para ellos un papel neutral, la evidencia experimental soporta lo contrario.



Cater, et al. (1997) sugieren, a la luz de sus resultados, que los TCM tienen la mitad de potencia que el ácido palmítico para incrementar las concentraciones de colesterol total y LDL en sujetos de edad media con hipercolesterolemia moderada.

Asakura, et al. (2000) comparan los efectos de los TCM con los PUFA de cadena larga procedentes del aceite de maíz, en pacientes hipertriglicéridémicos, observando que aquéllos tienen el inconveniente de incrementar las concentraciones plasmáticas de colesterol total en estos sujetos.

Los rumiantes incrementan sus niveles de colesterol sérico cuando la grasa suplementada es ingerida de manera que asegure la absorción de ácidos grasos de cadena larga. Un estudio realizado por Nestel, et al. (1978) con chotos y corderos pone de manifiesto que la hipercolesterolemia inducida en estos animales parece ser debida en primer lugar a una biosíntesis incrementada de colesterol a nivel intestinal, pero también parcialmente ocasionada por una excreción fecal de ácidos biliares disminuida.

#### ***1.4.2.-EFECTO DEL GRADO DE INSATURACIÓN***

Parece obvio, a la luz de los datos disponibles, que la cantidad de grasa, aunque importante, no reviste tanta significación como el tipo o calidad de la misma presente en la dieta, en el desarrollo de hipercolesterolemia.

Jones, et al. (1994) compararon el efecto del tipo de grasa de la dieta sobre la síntesis de colesterol en sujetos hipercolesterolémicos, alimentados durante 32 días: (a) con una dieta hipercolesterolémica, (36% de grasa total, de las cuales el 15% correspondían a SFA, un 15% de MUFA y un 6% de PUFA, junto a 180 mg colesterol/1000 kcalorías) y (b) a distintas dietas del Programa de Educación Nutricional (30% grasa total, con <7% de SFA y 80-85 mg colesterol/1000 kcalorías), las cuales tan sólo diferían en la fuente grasa empleada: aceite de oliva, maíz o colza. Los niveles de colesterol total y de LDL colesterol plasmáticos disminuyeron significativamente en todas las dietas que contenían aceites vegetales, al compararlas con la dieta basal. Estos datos indican una clara influencia del tipo de grasa de la dieta, como uno de los factores nutricionales implicados, de manera importante, en el desarrollo

de hipercolesterolemia inducida por la dieta. Sin embargo, los datos aportados por Hannah, et al. (1997) no muestran que el tipo de grasa influya sobre la alteración del metabolismo lipoproteico, en monos hipercolesterolémicos que ingieren una dieta con un alto contenido en grasa total (37%) y colesterol (0.4 mg/Kcal).

#### **ACIDOS GRASOS SATURADOS (SFA)**

Las dietas elevadas en grasa saturada se han correlacionado con niveles elevados de colesterol plasmático. En hamsters alimentados con dietas elevadas en colesterol, la ingesta simultánea de grasa saturada potencia el efecto del colesterol sobre la inhibición de la captación hepática de LDL, mediada por receptor, y sobre el incremento en los niveles de LDL en plasma (Spady and Dietschy, 1988).

Kuo, et al. (1989) observan, en ensayos llevados a cabo con monos cebus, que la degradación de LDL por parte de células sanguíneas mononucleadas es mayor en animales que ingieren aceite de maíz (rico en ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6), al compararlos con los que tomaron aceite de coco (rico en ácidos grasos saturados). Nicolosi, et al. (1990) muestran que la ingesta de aceite de coco disminuye hasta en un 50% el *turnover* de LDL mediado por receptor en esta misma especie.

La afirmación establecida de que la mayoría de los ácidos grasos saturados de la dieta aumentan la concentración de colesterol plasmático y de que los ácidos grasos insaturados la disminuyen es relativa, en el sentido de que el efecto del tipo de grasa depende de la ingesta lipídica global. Por ejemplo, se ha observado que una dieta rica en ácido palmítico (C16:0, SFA) aumenta los niveles de colesterol plasmático o de LDL-c, en comparación a otra con ácido oleico, sólo si la dieta también contiene colesterol (Khosla and Hayes, 1993). Previamente, Ng, et al. (1992) compararon el efecto de sustituir ácido palmítico por oleico en la dieta en sujetos normocolesterolémicos, sin observar modificaciones en la concentración o distribución de colesterol en las lipoproteínas séricas.

Barr, et al. (1992) indican que, en estudiantes sanos, la reducción de la ingesta de grasa total en la dieta, de un 37% a un 30% de las calorías no disminuye las concentraciones de LDL-c, a menos que dicho descenso vaya acompañado por una reducción paralela de los niveles de SFA (de un 16% a un 9%). Por otra parte, dicha reducción en SFA ocasiona un descenso paralelo significativo en los niveles de HDL colesterol. Los valores de CT disminuyen de manera significativa solamente al reducirse la ingesta de SFA.

La suplementación de un 10-20% de aceite de coco en la dieta, administrada durante 1-2 semanas, provoca una hipercolesterolemia significativa en pollos recién nacidos. Los niveles más bajos de aceite (10%) incrementan la concentración de colesterol en LDL y VLDL a la primera semana, mientras un aporte del 20% da lugar a incrementos de colesterol en todas las fracciones lipoproteicas, así como en la concentración de TG, tras dos semanas de tratamiento. Los cambios observados en los niveles de fosfolípidos (FL) y proteína total son menos profundos. La fluidez de la LDL y la VLDL, juzgada por la relación colesterol/FL, disminuye por la presencia de aceite de coco en la dieta. La relación colesterol/TG incrementa rápidamente en la LDL y especialmente en la VLDL tras la primera semana de ingesta, indicando un papel de la VLDL en la aterogénesis. Los cambios encontrados en las relaciones colesterol esterificado/fosfolípidos y en TG/FL sugieren que esta grasa alimentaria afecta a la distribución de los componentes lipídicos en el corazón de las partículas VLDL (Castillo, et al., 1996).

Otro estudio realizado en pollos de 14 días de edad, con una suplementación de aceite de coco en la dieta durante 2 semanas, muestra una franca hipercolesterolemia, apareciendo cambios en la composición de los ácidos grasos plasmáticos, correlacionados positivamente con la dieta. La respuesta de las fracciones HDL y LDL a la grasa saturada de la dieta difiere para los ácidos grasos láurico y mirístico, de modo que se observan mayores incrementos de colesterol total (CT), libre (CL) y esterificado (CE) en LDL que en HDL. La relación CT/FL, considerado un índice inverso de la fluidez de membrana, también se ve incrementada en LDL, pero no en HDL. Estos datos sugieren que la suplementación con aceite de coco en la dieta disminuye la fluidez de la LDL. La relación CE/TG también se incrementa significativamente en la LDL, corroborando la importante función aterogénica de esta fracción lipoproteica en respuesta a los ácidos láurico y mirístico (Talavera, et al., 1997).

El perfil lipídico y de lipoproteínas plasmáticas de sujetos con niveles moderadamente elevados de colesterol plasmático muestran valores de colesterol total y de LDL-c significativamente superiores en el grupo alimentado con mantequilla, seguido del que ingiere aceite de coco y menores para el grupo girasol. Los valores de apolipoproteína A-I y apolipoproteína B se ven significativamente superiores en los grupos mantequilla y aceite de coco, respecto del grupo girasol. Sólo se encuentran diferencias estadísticamente significativas para HDL-c y TG en mujeres. La actividad de la enzima encargada de la transferencia de ésteres de colesterol es mayor en el grupo que ingiere mantequilla. Estos resultados indican el efecto hipercolesterolémico de la grasa saturada (Cox, et al., 1995).

A pesar de que la grasa saturada incrementa los niveles de colesterol en la LDL, también parece ser la principal responsable de los incrementos en la HDL, posiblemente dependiente de una ingesta balanceada de grasas poliinsaturadas. Nestel, et al. (1994) observan niveles en plasma de HDL-c significativamente menores con la ingesta de ácido palmitoleico (C18:1 n-7) que con la de palmítico (C16:0). El ácido palmitoleico se asemeja más en su comportamiento a un ácido graso saturado y no como monoinsaturado que es, sobre los niveles de LDL-c plasmático.

El cerdo, roedor considerado como la especie más sensible a la grasa saturada, muestra valores hasta 3 veces superiores de colesterol total en plasma y 5 veces mayores los niveles de HDL-c, con dietas que tienen un elevado contenido en ácido láurico (C12:0) y mirístico (C14:0), procedentes del aceite de coco, respecto de otras altas en ácido linoleico (C18:2), contenido en el aceite de girasol. Los análisis de cinética de LDL no muestran diferencias significativas intergrupos en el índice catabólico de dicha lipoproteína. Así pues, la colesterolemia inducida por grasa saturada puede ser severa en ausencia de colesterol en la dieta, con un mayor impacto sobre HDL que sobre LDL, y sin un apreciable papel en el aclaramiento de LDL (Hajri, et al., 1998).

No todos los ácidos grasos saturados son igualmente responsables de los cambios en LDL o HDL. Tan sólo los TG naturales ricos en ácidos láurico (C12:0) y mirístico (C14:0) son especialmente colesterolémicos, mientras las grasas ricas en palmítico (C16:0) pueden ser

neutrales o hipercolesterolémicas, dependiendo de las circunstancias metabólicas. En individuos normolipidémicos, con un metabolismo lipoproteico normal, el ácido palmítico de la dieta se comporta de forma neutra. Cuando el metabolismo empeora, por ejemplo, si la actividad del receptor para LDL está disminuída en presencia de colesterol alimentario, el consumo de TG ricos en 16:0 sí puede contribuir a la hipercolesterolemia. Por otra parte, aunque el ácido esteárico (C18:0) es considerado neutro, un consumo exagerado de grasa rica en éste disminuye la LDL plasmática, pero también la HDL. El efecto de la grasa saturada se relaciona con el colesterol de la dieta; así, el ácido palmítico comienza a ser progresivamente hipercolesterolémico conforme el colesterol de la dieta incrementa su contenido en las lipoproteínas (Hayes, 1995).

El ácido laúrico incrementa las concentraciones de colesterol total más que el palmítico, debido en parte al incremento mayor en los niveles de HDL-c (Temme, et al., 1996). Resultados previos de Sundram, et al. (1994), obtenidos en sujetos normocolesterolémicos, muestran que la combinación de los ácidos laúrico (12:0) y mirístico (14:0) en la dieta produce una concentración de colesterol plasmático mayor que la ingesta de palmítico (16:0), en el contexto de una dieta baja en colesterol (200 mg/día). Sin embargo, estudios llevados a cabo en monos y en gerbos indican que los ácidos laúrico y palmítico afectan de manera similar a los niveles de lípidos plasmáticos cuando son administrados en el contexto de una dieta libre en colesterol, manifestando que el ácido palmítico no es más hipercolesterolémico que el laúrico (Pronczuk, et al., 1995).

Los cambios en la ingesta de ácidos grasos saturados, como mirístico (14:0) y palmítico (16:0) se correlacionan positivamente con incrementos en la masa y diámetro de la LDL, pero no con cambios en la concentración de LDL-colesterol, en sujetos alimentados con dietas que contienen cantidades altas (46%) o bajas (24%) de SFA. También se observa una correlación inversa entre los citados cambios en la ingesta de SFA y la actividad de la lipasa hepática (LH). El ácido esteárico, los MUFA y PUFA no se correlacionan con la concentración plasmática de lipoproteínas. Estos datos indican que una ingesta elevada de grasa saturada está asociada con una mayor concentración de LDL, que además son más grandes y contienen más colesterol, y esto ocurre de forma paralela a una disminución de la actividad de HL (Dreon, et al., 1998). Nestel, et al. (1998) obtienen datos contradictorios en sujetos hipercolesterolémicos e indican

que los ácidos esteárico y palmítico ejercen un incremento similar sobre las concentraciones de colesterol total y de LDL-c en plasma, sin observar modificaciones entre ingestas altas o bajas en grasa. Kris-Etherton, et al. (1993) sugieren que el ácido esteárico parece ejercer un efecto *per sé* en humanos, frente a otros ácidos grasos de cadena larga, sin manifestarse claramente el mecanismo por el cual ejerce dicho efecto.

En sujetos sanos se ha observado que los ácidos grasos saturados de cadena media también incrementan la concentración de LDL-c, aunque levemente, y que afectan a la relación ApoA-I/ApoB desfavorablemente, en comparación con el ácido oleico. El ácido mirístico incrementa las concentraciones tanto de LDL como de HDL-c, más que el ácido oleico (Temme, et al., 1997).

La ingesta prolongada de ácidos grasos saturados (SFA) provoca una mayor síntesis de colesterol hepático en humanos cuando se compara con la de grasa poliinsaturada. (Triscari, et al., 1978). Por otro lado, los resultados de ingestas elevadas de MUFA indican un descenso en dicha síntesis, respecto al grupo alimentado con PUFA, en hamsters (Spady, et al., 1988) y cobayas (Fernández, et al., 1990). La ingesta de SFA provoca respuestas distintas frente a la supresión de la síntesis endógena de colesterol, en hamsters (Fernández, et al., 1990), y en cerdos (Ibrahim and McNamara, 1988), positiva en los primeros y no así en los segundos. Las diferencias encontradas pueden ser debidas a las especies consideradas, al tipo de grasa ingerida o al rango de concentración de grasa empleada en los distintos estudios (Fernández et al., 1991).

#### **ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS (UFA)**

Las modificaciones colesterolémicas observadas en sujetos alimentados con distintas dietas, todas ellas moderadamente altas en grasa (37% de la ingesta calórica total), procedente de distintas fuentes (aceites de oliva, de soja, mantequilla de coco o mantequilla de origen animal) manifiestan un efecto hipocolesterolémico de los ácidos grasos insaturados, oleico y linoleico, representados respectivamente por los distintos aceites vegetales, oliva y soja, respecto de la ingesta de mantequilla (SFA). Los cambios observados en los niveles plasmáticos de LDL-c concurren paralelos a los de colesterol total en plasma (Kris-Etherton, et al., 1993).

Muntanen (1997) estudió los efectos de la composición de ácidos grasos de la dieta sobre diferentes parámetros relacionados con el metabolismo lipídico, poniendo de manifiesto que, tanto el ácido linoleico como el ácido oleico ejercían acciones comparables cuando fueron reemplazados por ácidos grasos saturados en la dieta.

Estudios *in vitro* indican que los ácidos grasos insaturados de cadena larga incrementan en un 20-40% la captura y degradación de LDL, en fibroblastos y macrófagos J774. Sin embargo, los ácidos grasos insaturados de cadena corta, así como los saturados ejercen un efecto escaso o nulo. Esto sugiere que el efecto hipocolesterolémico de los ácidos grasos insaturados radica en que incrementan la actividad del receptor de LDL en primer lugar por incremento de la actividad de acil colesterol aciltransferasa (ACAT) y en segundo, por la posterior depleción local del pool de colesterol libre, señalando la necesidad de incrementar el colesterol exógeno (Rumsey, et al., 1994).

Los valores de LDL-c y de apoB100 disminuyen alrededor de un 10%, tras la ingesta de margarina insaturada (UFA), al compararlos con los encontrados al ingerir mantequilla (SFA), en el contexto de una dieta baja en grasa, en pacientes hipercolesterolémicos; sin embargo, los niveles de Lp(a) y de HDL-c muestran valores similares con ambas dietas. Con independencia de lo que concierne a los efectos adversos de los ácidos grasos *trans* sobre las lipoproteínas, el empleo de margarinas insaturadas en mayor grado que de mantequilla por la población hipercolesterolémica está asociada con un mejor perfil lipoproteico, y las consecuencias que de ello se derivan, en lo que respecta a patologías asociadas (Chisholm, et al., 1996).

### **ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS (PUFA)**

Dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) han venido mostrando constantemente un efecto hipocolesterolémico en humanos (Grundy, et al., 1975; Blaton, 1984; Takatsuka, et al., 2000) y en diferentes especies animales, tales como hamster (Spady, et al., 1985), cerdo (Fernández, et al., 1985) o mono (Chong, et al., 1987).

### **Ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (PUFA n-3)**

Estudios epidemiológicos sugieren que poblaciones con una ingesta alta de PUFA n-3, presentes en animales marinos, están protegidas frente a la enfermedad coronaria. La síntesis y secreción hepática de VLDL son reducidas durante la administración de aceite de pescado, mientras otros efectos sobre el metabolismo lipídico y lipoproteico permanecen en controversia.

Achtani, et al. (1995) indican que la administración de aceite de pescado provoca mayores niveles de B-VLDL-c, LDL-c y niveles totales de peróxidos séricos (TBARS), sobre la hipercolesterolemia inducida en conejos por el colesterol de la dieta, que cuando los animales sólo ingieren un 0.1% de colesterol. Esta ingesta también ocasiona un mayor número de células espumosas de la íntima, posiblemente ligado a un incremento en el contenido de colesterol total y de TBARS plasmáticos y a una simultánea reducción de la captación hepática de B-VLDL.

El consumo de pescado durante un periodo de dos semanas reduce en mujeres los MUFA de un 24,2% a un 22,1% e incrementa los PUFA de un 50% a un 51,2% del total de ácidos grasos, aunque no ocasiona ningún efecto sobre la composición de ácidos grasos saturados. Particularmente, los PUFA n-3 aumentan de un 6,8% a un 9,7%; la relación n-3/n-6 muestra un incremento del 0,26% al 0,24% y los niveles de HDL colesterol también incrementan significativamente, mientras el CT no se ve alterado (Umemura, et al., 2000).

La ingesta de aceite de pescado (>35%) puede reducir la aterogénesis en sujetos hipertriglicéridémicos, por disminución de la producción hepática de partículas remanentes ricas en colesterol aterogénico, incrementando la de partículas LDL más grandes y menos aterogénicas y alterando con ello la dinámica del colesterol plasmático (Tinker, et al., 1999). La baja ingesta de aceite de pescado purificado induce cambios en la concentración de 20:5 (n-3) en VLDL, LDL, y HDL, y de 22:6 (n-3) en LDL y HDL, en individuos normales, estos cambios pueden influir en la aterogenicidad de las partículas lipoproteicas (Layne, et al., 1996).

A la luz de los resultados obtenidos por Balestrieri, et al. (1996) en sujetos con hipercolesterolemia familiar, en los cuales los valores de colesterol total, LDL-c, VLDL-c y



HDL-c no se ven modificados a lo largo del periodo experimental, se sugiere que la posible influencia favorable del aceite de pescado sobre la progresión de aterosclerosis en estos pacientes de alto riesgo puede implicar mecanismos diferentes del metabolismo lipídico.

### **Ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 (PUFA n-6)**

La relación PUFA n-6/n-3 presente en las dietas de países desarrollados es demasiado elevada y, por ello, responsable del incremento en la prevalencia de diferentes problemas de salud, tales como cáncer, reactividad hiperalérgica, etc (Gurr, 1998). Diversos estudios muestran en concreto, efectos de los PUFA de la serie n-6 sobre aspectos fisiológicos relacionados con el proceso aterosclerótico.

German, et al. (1988) sugieren que la eficacia de los aceites de pescado para reducir, en macrófagos peritoneales de ratón, la biosíntesis de eicosanoides y la consiguiente reducción del desarrollo de determinadas enfermedades crónicas, entre ellas aterosclerosis, inflamación y enfermedad cardiovascular, en respuesta a estímulos específicos, está influenciada por los niveles de PUFA (n-6) y de grasa total aportados en la dieta.

Sin embargo, estudios posteriores, llevados a cabo por Hwang, et al. (1997), en sujetos alimentados con diferentes cantidades de PUFA n-3 y n-6, ponen de manifiesto que la eficacia del aceite de pescado para modificar favorablemente los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular no se ve atenuada por el aceite de girasol.

Por otra parte, Lu, et al. (1996) demuestra que el grado de hipercolesterolemia inducida por una dieta alta en colesterol y PUFA n-6 es menor que el ocasionado por la ingesta de PUFA n-3 con aportes equivalentes de colesterol. Ahora bien, el aumento en el contenido de colesterol en VLDL + (IDL+LDL) observado en el grupo alimentado con PUFA n-3, depende del suplemento de colesterol en la dieta, y puede ser debido a un descenso del catabolismo de estas lipoproteínas.

Las diferencias encontradas en el metabolismo lipídico y de eicosanoides urinarios en un modelo experimental de perros con insuficiencia renal podrían explicar, en parte, los efectos

perjudiciales de PUFA n-6 frente a la hipercolesterolemia, cuando son administrados largo tiempo, en el contexto de una dieta baja en grasa (15%), (Brown, et al., 2000).

### **ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS (MUFA)**

Alrededor de los años 70 fue noticia la baja incidencia de enfermedades ateroscleróticas en los países mediterráneos, así como la importancia del factor “dieta” en dicha protección. Se sabe que las dietas en estos países eran muy ricas, con aproximadamente el 29% de la ingesta energética total, en aceite de oliva, cuyo constituyente mayoritario es el ácido oleico, ácido graso monoinsaturado (C18:1 n-9). Este, además de ejercer efectos relativamente menores sobre la regulación cuantitativa y cualitativa de los niveles de colesterol, parece interferir directamente con la respuesta inflamatoria que caracteriza la aterogénesis temprana. Así, ejerce un efecto positivo sobre la expresión endotelial de moléculas de adhesión para monocitos circulantes, que es inducida por citokinas inflamatorias, LDL mínimamente oxidada y productos finales de la glicosilación avanzada (presentes en la diabetes) y que contribuye substancialmente a la aparición y progresión precoz de la aterosclerosis.

En humanos se ha demostrado un descenso en los niveles de colesterol plasmático con dietas elevadas en ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) (Mattson and Grundy, 1985). La respuesta hipocolesterolemica al tipo de grasa de la dieta parece depender de la especie considerada, en algunos aspectos, tal y como se ha demostrado en cerdo (Fernández, et al., 1989), rata y ratón (Kris-Etherton, et al., 1988; Beynen, et al., 1987) o conejos (Beynen, et al., 1988; Aguilera, et al., 1999).

El efecto de la ingesta de grasa monoinsaturada sobre los lípidos séricos se ve reflejada también con la ingesta de nueces Macadamia, caracterizadas por un contenido elevado de grasa por peso (75%), de la cual el 80% es monoinsaturada; dietas basadas en el aporte de estos frutos ejercen una acción potencialmente beneficiosa sobre los niveles de colesterol y LDL-c, cuando se comparan con una dieta típica americana (Curb, et al., 2000).

La ingesta de dietas isocalóricas, que aportan respectivamente un 37% y 36% del contenido energético total como grasa, pero que difieren en la fuente grasa empleada, aceite de girasol (PUFA) y aceite de oliva (MUFA) durante dos semanas, muestran en hombres y mujeres que los MUFA no producen efecto alguno sobre los niveles de CT en hombres, pero sí incrementan en un 9% en mujeres. Paralelamente, los valores de HDL-c aumentan un 17% en hombres y 30% en mujeres, mientras el índice aterogénico CT/HDL-c declina de manera significativa en ambos sexos. Sin embargo, no se observan cambios significativos en los valores de LDL-c. Estos datos puede indicar que, cuando se comparan con los poliinsaturados, los ácidos grasos monoinsaturados de la dieta incrementan el nivel de HDL-c plasmático y reducen el perfil de riesgo aterogénico en sujetos de ambos sexos (Mata, et al., 1992).

Según trabajos realizados por Singh, et al. (1992), es posible que una dieta con un 27,5% de grasa total, que incluya un 10,1% de MUFA, una relación PUFA/SFA de 1.38, 120 mg de colesterol y 26 g de fibra/1000 kcal pueda modular el metabolismo lipídico, ocasionando un significativo descenso en CT y de LDL-c, sin una reducción paralela de HDL-c. Así, esta dieta puede ser capaz de reducir la incidencia de patologías asociadas a hiperlipidemia en la India.

López-Ledesma, et al. (1996) demuestran que una ingesta de MUFA, incluso en dietas con una cantidad total de lípidos elevada, mejora el perfil lipídico en sujetos sanos, con descensos del 16% en los niveles de CT y, principalmente en pacientes con hipercolesterolemia moderada, en los que dichos niveles de CT bajan hasta un 17%, y un 22% los de LDL-c, incrementando los de HDL en un 11%, incluso cuando los niveles de TG también son elevados (hiperlipemia combinada).

La sustitución de ácidos grasos poliinsaturados por monoinsaturados en proporciones crecientes desde un 3% a un 14%, en el contexto de una dieta que aporte niveles bajos de grasa total (30%), y manteniendo constantes todos los demás parámetros relacionados con el colesterol plasmático, ocasiona un progresivo declive en el colesterol total, sin afectar a HDL, en sujetos con hipercolesterolemia moderada (Howard, et al., 1995a).

La ingesta de aceite de oliva (MUFA) provoca en humanos un aumento en la concentración de HDL-c, respecto de la ingesta de mantequilla (SFA) (Thomsen, et al., 1999). La sustitución parcial de grasa saturada por MUFA puede provocar reducciones en la concentración de colesterol total y LDL-c, en sujetos jóvenes y de mediana edad, alimentados con dietas que varían en el contenido de MUFA y SFA, manteniendo constantes los PUFA, incluso cuando la ingesta de energía y grasa total se mantiene también invariable. La causa no parece ser debida a las variaciones en sus dietas habituales, que son generalmente similares, sino que más bien reflejan la menor concentración de colesterol basal en individuos más jóvenes. No obstante, la disminución de la ingesta de ácidos grasos podría ser apropiada para conseguir reducciones en la de SFA en todas las poblaciones (Williams, et al., 1999).

Rudel, et al. (1998) obtienen resultados contrarios en ratones con concentraciones elevadas de LDL, desarrolladas por ingeniería genética. Estos autores apoyan la hipótesis previa de que un incremento en la dieta del contenido en MUFA, pero no de PUFA, podría promover la aterosclerosis. Este modelo de hipercolesterolemia, estudiado en una variedad de ratón con sobreexpresión de apoB humana, y receptores de LDL nulos, muestra que los ácidos grasos monoinsaturados, en posición *cis* o *trans*, no protegen frente al desarrollo de aterosclerosis, mientras la lesión aterosclerótica en aorta de animales alimentados con grasa poliinsaturada se manifiesta significativamente menor que en el grupo que ingiere SFA.

#### ***1.4.3.-EFECTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS DE LA DIETA SOBRE LA LIPOPROTEÍNA (a) Lp(a)***

La lipoproteína (a) (Lp(a)), resulta de la unión de una molécula de LDL con una glucoproteína, apo(a), a través de un puente disulfuro. Presenta características físico-químicas similares a LDL, pero un mayor peso molecular, así como un patrón de movilidad electroforética diferente y un rango de densidades superior, cuando es sometida a ultracentrifugación (Lasunción, et al., 1993). Estudios clínicos y epidemiológicos han demostrado, como hemos citado, la existencia de una correlación positiva entre las concentraciones de Lp(a) y la presencia tanto de enfermedad coronaria (Maher, et al., 1995) como de accidentes cerebrovasculares de origen isquémico (Botet, et al., 1992). Probablemente,

la Lp (a) actúe inhibiendo la fibrinólisis (Loscalzo, et al., 1990), dada su semejanza estructural con la molécula de plasminógeno. Además promovería la acumulación de colesterol en las células y estimularía la proliferación de las células musculares lisas de la pared vascular (Grainger, et al., 1993), a consecuencia de lo cual favorecería la aterosclerosis. Por dicha razón, en la actualidad se considera la Lp (a) como factor de riesgo independiente para la enfermedad cardiovascular, y de ahí la importancia de disminuir sus concentraciones en plasma (Dahlen, et al., 1994).

La concentración de esta lipoproteína se mantiene prácticamente constante durante toda la vida en cada individuo, puesto que su polimorfismo genético es responsable del 90% de los valores plasmáticos de la lipoproteína, mientras los factores ambientales contribuyen sólo en un 10% (Boerwinkle, et al., 1992). Por ello, la concentración de Lp(a) podría depender también de modificaciones en la grasa de la dieta, según Lahoz, et al. (1998), pero el posible mecanismo por el que la grasa de la dieta afecta a la concentración de la Lp(a) se desconoce.

El colesterol de la dieta no parece afectar los niveles de esta lipoproteína en plasma (Brown, et al., 1991), aunque podrían originarse variaciones tanto en la síntesis como en el ensamblaje de la misma por los ácidos grasos de la dieta, como demuestran Brousseau, et al. (1994) en monos.

En función del grado de saturación de los ácidos grasos y de la configuración espacial (*cis o trans*), la grasa ejercerá un efecto mayor o menor sobre la concentración de Lp(a).

Por una parte, han sido descritos incrementos en dicha concentración al sustituir los SFA de la dieta por MUFA o PUFA (Hornstra, et al., 1991; Mensink, et al. 1992). Por otra, los MUFA en configuración *trans* parecen ocasionar el mayor incremento de la lipoproteína estudiada, respecto de otros tipos de grasa alimentaria (Mensink, et al., 1992). No existen datos concluyentes acerca de los efectos de la administración con PUFA (n-3), procedentes de aceite de pescado (Beil, et al., 1991; Schmidt, et al., 1993; Haglund, et al., 1994; Eritsland, et al., 1995; Herrmann, et al., 1995). Recientemente, Lahoz, et al. (1998) han realizado un estudio en sujetos normocolesterolémicos de ambos sexos, observando los valores más elevados de lipoproteína (a) con los PUFA, intermedios para los MUFA y menores en el grupo que ingiere

SFA. Quiere ello decir que, a mayor grado de insaturación más elevada es la concentración de Lp(a), por lo que se presenta una correlación negativa con los valores de LDL-c.

Ahora bien, la Lp(a) ejerce sus efectos siempre que los valores de colesterol en LDL estén paralelamente incrementados (Armstrong, et al., 1986), y, la disminución de éste compensa el posible efecto patógeno de la Lp(a) (Maher, et al., 1995), por lo que la terapia dietética se debe centrar en la reducción de los niveles de LDL-c en plasma, mediante la sustitución de grasa saturada en la dieta por mono o poliinsaturada, así como en una reducción de la ingesta de colesterol, subestimando el posible efecto negativo que el cambio en la concentración de Lp(a) pueda, en consecuencia, originar.

#### ***1.4.4.-INFLUENCIA DE LOS ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS DE LA DIETA SOBRE LA SUSCEPTIBILIDAD A LA OXIDACIÓN***

Los ácidos grasos poliinsaturados disminuyen los niveles de colesterol plasmático, pero pueden incrementar la susceptibilidad de LDL a modificaciones oxidativas. La LDL oxidada juega un papel importante en el proceso de aterosclerosis, presentándose más aterogénica. La cantidad de productos resultado de la peroxidación está influenciada por el contenido de lipoproteínas en 18:1(n-9), 18:2 (n-6) y 18:2 (n-6)/18:1(n-9) que es dependiente, a su vez, de los ácidos grasos de la dieta. La LDL enriquecida en oleato y con menor contenido en PUFA se presenta más resistente a las modificaciones oxidativas, por lo que esta característica puede ser utilizada para disminuir el grado de oxidación de LDL e indirectamente su aterogenicidad.

Como hemos comentado, el aceite de oliva es la fuente grasa predominante en la dieta mediterránea y presenta gran riqueza en ácido oleico (MUFA). Este ácido graso puede combinar las ventajas de su capacidad para disminuir el nivel de colesterol plasmático por una parte, y de disminuir la susceptibilidad de LDL a la oxidación, por otra, en pacientes hipercolesterolémicos. Paralelamente, se observa un retraso en la generación de dienos conjugados en un 28% con la dieta rica MUFA respecto de la que aporta PUFA. Sin embargo, no se encuentran cambios significativos en las concentraciones de colesterol, ni en plasma ni en LDL, ni tampoco se ven

afectados los valores de CoQ<sub>10</sub>, ni de vitamina E, con ninguna de las dietas empleadas (Baroni, et al., 1999).

Según Wiseman, et al. (1996), el efecto protector frente a la oxidación, atribuido al aceite de oliva, parece deberse a la presencia de componentes antioxidantes, probablemente compuestos fenólicos no-tocoferol, presentes únicamente en el aceite de oliva virgen. Estudios recientes apoyan este hecho, al indicar que ambos tipos de aceite de oliva (virgen y refinado) protegen la LDL de la oxidación, pero que los componentes fenólicos del aceite de oliva virgen muestran mayor efecto frente a la oxidación lipoproteica que los del aceite de oliva refinado (Ramírez-Tortosa, et al., 1999, (a, b); Fito, et al., 2000, (a, b)).

O'Bryne, et al. (1998) han observado que la sustitución de una dieta típica americana por otra baja en grasa y rica en MUFA altera favorablemente la composición en ácidos grasos y el perfil oxidativo de LDL en individuos hipercolesterolémicos, al incrementar las concentraciones y proporciones de 18:1(n-9) y reducir las de 18:2 (n-6) y de 18:2 (n-6)/18:1(n-9) en LDL. Sin embargo, cuando estas dietas bajas en grasa no llevan suplementos de MUFA, no provocan cambios significativos en los ácidos grasos presentes en LDL. El retraso en la formación de dienos conjugados, durante la oxidación *in vitro* inducida por Cu<sup>2+</sup> resulta mayor con cualquiera de las dietas de recuperación, pero tan sólo el enriquecimiento en MUFA produce un retraso en el aumento y formación de peróxidos.

Un estudio realizado en conejos con aterosclerosis experimental pone de manifiesto una restauración eficaz de los perfiles lipídicos a sus valores normales tras la oxidación inducida por Cu<sup>2+</sup>, cuando son alimentados con dietas ricas en MUFA y PUFA (n-3), procedentes respectivamente de aceites de oliva y de pescado, éste último debidamente protegido (estabilizado) con antioxidantes (Ramírez-Tortosa, M.C., et al., 1998).

#### ***1.4.5.-INFLUENCIA DE LA HIDROGENACIÓN DE LA GRASA (ÁCIDOS GRASOS TRANS) SOBRE LA SUSCEPTIBILIDAD A LA OXIDACIÓN***

Los estudios existentes acerca de la influencia de la hidrogenación de los ácidos grasos sobre la hipercolesterolemia muestran resultados contradictorios. En sujetos

hipercolesterolémicos, la sustitución de aceite de maíz por margarina elaborada con este aceite provoca incremento en la síntesis de colesterol endógeno, pero éste no contribuye al aumento en la concentración de colesterol plasmático observado tras la ingesta de margarina, sino que más bien parece ser debido a un descenso en el rango del catabolismo del colesterol. Tampoco se observa mayor susceptibilidad de LDL a la oxidación, ni efecto alguno sobre los niveles de HDL-c (Cuchel, et al., 1996).

Nestel, et al. (1995) estudiaron, como alternativa al uso de ácidos grasos *trans* en margarinas manufacturadas, el efecto de un proceso de interesterificación de aceites sobre los lípidos plasmáticos, sin observar diferencias significativas en los niveles de colesterol plasmático respecto de los obtenidos a partir de ácidos grasos constituyentes naturales de las margarinas. Sin embargo, investigaciones realizadas en mujeres con hipercolesterolemia moderada, tras un periodo de adaptación a diferentes tipos de dietas, indican un aumento en los niveles de colesterol total y de LDL-c plasmáticos conforme lo hace el grado de hidrogenación de la grasa saturada ingerida, mientras los valores de HDL-c se correlacionan negativamente con dicho grado de hidrogenación (Matthan, et al., 2000). Previamente, Lichtenstein, et al. (1993) indican que la hidrogenación del aceite de maíz (PUFA) provoca un empeoramiento del efecto hipolipémico del mismo en humanos.

### **1.5.-ANTIOXIDANTES**

El estrés oxidativo es una alteración del balance entre una mayor actividad del oxígeno y los sistemas de protección celulares, enzimáticos y no enzimáticos. Puede surgir a través de la producción incrementada de especies que reaccionan con oxígeno (metabolitos altamente reactivos), y/o a causa de una deficiencia de defensas antioxidantes, las cuales, en condiciones normales se encargan de neutralizar dicho efecto. Estos antioxidantes incluyen enzimas y pequeñas moléculas derivadas de nutrientes (vitaminas E y C, carotenoides, flavonoides, etc) (Sardesai, 1995). La ruptura del delicado balance existente entre pro y antioxidantes ha sido implicado en la fisiopatología de muchas enfermedades crónicas, entre ellas, la aterosclerosis (Keaney, and Vita, 1995; Santanam, et al., 1998). Por este motivo, la prevención primordial de los factores de riesgo asociados, entre ellos la hipercolesterolemia, requiere diversas medidas



que deben demostrar las propiedades antiaterogénicas y antioxidativas, entre otras (Monnier, et al., 1999), con una intervención nutricional principalmente.

En el curso de la enfermedad se suelen desarrollar pronto anomalías en el control del tono vascular dependiente de endotelio, posiblemente como resultado de una modificación oxidativa de LDL. Keaney, et al. (1993) sugieren que la preservación de la función vasodilatadora vascular se deba a un mecanismo relacionado con el contenido antioxidante del tejido vascular.

La suplementación con vitaminas antioxidantes (vitamina E, C y  $\beta$ -caroteno) durante 12 semanas puede disminuir el nivel de LDL oxidada de manera significativa e inhibir el desarrollo de aterosclerosis en conejos alimentados con una dieta rica en colesterol (Chen, et al., 1997). Kafatos, et al. (2000) indican que el alto contenido en antioxidantes de una dieta terapéutica (mediterránea) probablemente sea responsable de los niveles tan bajos de colesterol, encontrados en la LDL de pacientes con hipercolesterolemia.

Han sido propuestos dos mecanismos diferentes a través de los cuales los antioxidantes pueden inhibir la aterogénesis y mejorar la función vascular: (a) *A nivel de LDL*: los antioxidantes solubles en lípidos presentes en la LDL, incluido  $\alpha$ -tocoferol, y antioxidantes solubles en agua presentes en el fluido extracelular de la pared arterial, incluyendo ácido ascórbico (vitamina C), inhiben la oxidación de LDL a través de una acción antioxidante específica de LDL. (b) *A nivel celular*: los antioxidantes presentes en las células de la pared vascular disminuyen la producción celular y liberación de especies reactivas con oxígeno (ROS), inhiben la activación endotelial y mejoran la actividad biológica del óxido nítrico derivado del endotelio (ENDO) a través de una acción antioxidante de una célula o tejido específico, incrementando su resistencia al efecto citotóxico de la LDL ya oxidada (Negre-Salvayre, et al., 1995; Frei, 1999).

La acción combinada de determinados compuestos flavonoides, ácido ascórbico y  $\alpha$ -tocoferol, capaces de inhibir la peroxidación lipídica de LDL y su consiguiente citotoxicidad, origina un efecto citoprotector máximo con concentraciones relativamente menores (Negre-Salvayre, A., et al., 1995). Sin embargo, Jialal, I. and Grundy, S.M. (1993) no observan mayor

inhibición de LDL a la oxidación en humanos tras la administración combinada con ascorbato,  $\beta$ -caroteno y  $\alpha$ -tocoferol que dosis elevadas de  $\alpha$ -tocoferol solo.

Sun, J., et al. (1997) obtienen parámetros ateroscleróticos semejantes en conejos hipercolesterolémicos, ya sea con la administración aislada o conjunta de  $\beta$ -caroteno y  $\alpha$ -tocoferol. Lo que sí está claro es que la acción conjunta de ambas vitaminas antioxidantes mejora el perfil aterogénico de animales enfermos, respecto de los que no tuvieron ningún suplemento en la dieta. Quedan mostrados pues, los efectos hipocolesterolémicos del  $\beta$ -caroteno y antioxidantes del  $\alpha$ -tocoferol, indicando su papel beneficioso en la inhibición del desarrollo de lesiones ateroscleróticas en conejos alimentados con una dieta aterogénica.

No obstante, en ratones deficientes en apoE (desarrollan lesiones ateroscleróticas semejantes a las observadas en humanos) no se presentan efectos inhibidores de la aterogénesis tras la administración conjunta de niveles moderados de  $\beta$ -caroteno (0.05%) y de  $\alpha$ -tocoferol (0.05%) sintéticos (Shaish, et al., 1999).

### **1.5.1.-VITAMINAS LIPOSOLUBLES**

#### **VITAMINA A**

La evidencia epidemiológica sugiere que ingestas elevadas de  $\beta$ -caroteno y de vitamina E disminuyen el riesgo de enfermedad vascular aterosclerótica, interviniendo como antioxidantes liposolubles que incrementan la protección de la LDL frente a la oxidación. Shaish, et al. (1995) sugieren, en vista de los resultados positivos obtenidos en conejos hipercolesterolémicos, que los metabolitos derivados de todos los isómeros *trans* de  $\beta$ -caroteno inhiben la aterosclerosis, posiblemente a través de interacciones estereoespecíficas con receptores del ácido retinoico, presentes en la pared arterial.

En la línea celular de macrófagos J-774 A.1, la síntesis celular de colesterol es suprimida en un 63% tras incubación con  $\beta$ -caroteno, incrementando la actividad del receptor de

LDL en dichas células, por lo que los carotenoides suplementados en la dieta pueden actuar como agentes hipocolesterolémicos moderados, secundarios a su efecto como inhibidores de la 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzimaA-reductasa (HMGCoA reductasa) macrofagocitaria, enzima limitante de la síntesis de colesterol (Fuhrman, et al., 1997).

Pacientes con isquemia cardiaca muestran un descenso significativo de la concentración de peróxidos lipídicos en plasma (determinados por TBARS), tras la suplementación oral diaria de  $\beta$ -caroteno, junto con vitaminas C y E, durante un periodo de 21 días (Panczenko-Kresowska, et al., 1998), lo que indica su acción antioxidante.

Tsuchihashi, et al. (1995) observan que, en los compartimentos lipofílicos de las membranas liposomales, el consumo de  $\beta$ -caroteno es más rápido que el de  $\alpha$ -tocoferol, indicando que el primero es relativamente más favorable al secuestro de radicales libres dentro de la membrana que el segundo. La actividad antioxidante de  $\beta$ -caroteno resulta menor que la de  $\alpha$ -tocoferol cuando la presión de oxígeno es mayor, posiblemente debido a una autooxidación de aquél, con la consiguiente formación de polímeros derivados.

Diferentes especies de primates no humanos, normo e hipercolesterolémicos, alimentados con cantidades definidas de vitamina A en sus dietas, muestran diferencias en sus niveles circulantes de retinol, que pueden reflejar diferencias intra-grupos en los niveles de éste, ligado a proteína. Sin embargo, los valores de concentración de colesterol no muestran diferencias entre los grupos, aunque sí dentro de una misma especie, cuando la dieta es alterada (Rogers, et al., 1993).

Bowen, et al. (1998) observan en humanos una correlación negativa entre los incrementos en la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en LDL y grado de oxidación de la misma, mientras que dicha relación es positiva cuando determinan los niveles de  $\beta$ -caroteno en la lipoproteína. Esto sugiere que el  $\beta$ -caroteno participa como pro-oxidante en la degradación oxidativa de LDL bajo estas condiciones. Puesto que altos niveles de  $\alpha$ -tocoferol no mitigan dicho efecto pro-oxidativo, todo parece indicar que el  $\beta$ -caroteno de LDL puede cancelar las cualidades protectoras del  $\alpha$ -tocoferol. Estos resultados son apoyados por los encontrados en

cultivos de células endoteliales humanas por Dugas, et al. (1998), en las que el contenido específico de carotenoides en LDL modula claramente su susceptibilidad a la oxidación, pudiendo éstos, de manera aislada, inhibir o promover dicha oxidación. Sin embargo, Fontham, et al. (1995) no observan efectos adversos sobre la concentración de  $\alpha$ -tocoferol tras la suplementación con  $\beta$ -caroteno (30 mg/día), durante dos años. Por otra parte, Kozachenko, et al. (2000) han indicado recientemente la influencia de ascorbato y de  $\alpha$ -tocoferol como estabilizadores del  $\beta$ -caroteno frente a la oxidación.

La modulación de la oxidación del ácido araquidónico, provocada por  $\beta$ -caroteno y retinol, y en menor grado por  $\alpha$ -tocoferol, al influir éstos en las vías de la ciclooxigenasa y lipooxigenasa, con descenso en la producción de prostaglandina  $E_2$  y ácido hidroxieicosatetraenoico (HETE), pueden tener implicaciones importantes *in vivo* en el proceso aterosclerótico (Halevy and Sklan, 1987).

## VITAMINA D

La calcificación vascular es un proceso activo y modificable, implicado en muchas enfermedades, entre ellas la aterosclerosis. Diversos factores parecen jugar un papel importante en este sentido, entre los que cabe destacar la vitamina D, pues se han observado lesiones ateroscleróticas inducidas por la administración de vitamina  $D_2$  en humanos (Jahreis and Hesse, 1990; Watson, et al., 1997; Christian and Fitzpatrick, 1999) cerdo (Kunitomo, et al., 1983) o rata (Okawa, et al., 1982; Yasoshima, et al., 1982; Kitagawa, et al., 1993; Sakono, et al., 1997).

Se han empleado también modelos de calcinosis experimental, inducidos por la administración de vitamina  $D_3$  o hidroxicolecalciferol (25 (OH)  $D_3$ ) (Fleckenstein-Grun, et al., 1995; Norman, P.E., et al., 1995), que, junto con los desarrollados por la vitamina  $D_2$ , han hecho posible el descubrimiento de aspectos importantes de la regulación del metabolismo lipídico y de lipoproteínas, no sólo a nivel vascular, sino también en diferentes órganos de animales experimentales, abriendo nuevas posibilidades para el estudio del mecanismo patológico de algunas manifestaciones de la aterosclerosis (Kvaszova, et al., 1997).

La inducción de aterosclerosis en conejos y cerdos por hipervitaminosis D (dosis respectivas de 10,000 y 62,500 IU/kg) muestra un papel clave de la vitamina 25-OH-D<sub>3</sub>, con un potente efecto destructivo sobre la integridad de la pared arterial, así como necrosis de células musculares lisas, causadas posiblemente por incremento en la permeabilidad de la membrana celular al Ca<sup>2+</sup>, seguido de incorporación a las mismas de la citada vitamina (Toda, et al., 1983).

El efecto aterogénico de la vitamina D ocurre siempre acompañado de un elevado contenido de colesterol en la dieta, que aparece como factor contribuyente (junto a otros como nicotina o deficiencia de Mg) a la potenciación de los efectos adversos de la misma en la etiología de la aterosclerosis (Kunitomo, et al., 1981; Moon, et al., 1992).

Sin embargo, datos obtenidos acerca de las concentraciones séricas de dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>), calcio y hormona paratiroide (parathormona) muestran resultados contradictorios en humanos, observando que no existe correlación entre los citados parámetros y el grado de calcificación coronaria (Arad, et al., 1998). Contraria es la hipótesis previa propuesta por Norman, et al. (1995), que apuntan a dicha forma activa de la vitamina D como un posible factor etiológico de la patogénesis del aneurisma aórtico abdominal, tradicionalmente atribuido a la aterosclerosis (y sin embargo, actualmente en duda), debido a su papel como inhibidor de la producción de elastina.

Estudios en conejos demuestran que el tratamiento con concentraciones fisiológicas de (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) incrementa significativamente la síntesis de prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) por células del músculo liso. A su vez, es inducida la actividad de ciclooxigenasa, sin modificar la actividad fosfolipasa A<sub>2</sub>, lo que sugiere que la vitamina D<sub>3</sub> sea un agente vasoactivo y pueda jugar un papel protector en el desarrollo de aterosclerosis (Wakasugi, et al., 1991).

## **VITAMINA E**

El α-tocoferol es el principal antioxidante liposoluble presente en plasma y en las lipoproteínas humanas. Niveles bajos de este compuesto se han venido asociando con riesgo incrementado de enfermedad arterio-coronaria, mientras la ingesta aumentada del mismo se ha mostrado protectora. Además, puede participar en la pared arterial de células críticas, tales como

monocitos-macrófagos, células del músculo liso, endoteliales o plaquetas, ejerciendo efectos beneficiosos sobre la misma (Devaraj and Jialal, 1998).

No obstante, estudios realizados en conejos alimentados con colesterol (1%) indican que, ingestas moderadas de  $\alpha$ -tocoferol en la dieta (1,000 IU/kg) preservan, efectivamente, la función vasodilatadora endotelial, mientras que una dosis mayor (10,000 IU/kg) se asocia con disfunción del endotelio, así como proliferación incrementada de la íntima, seguida de una menor resistencia de LDL a la oxidación *ex vivo*, mediada por cobre (Keaney, et al., 1994).

Trabajos posteriores muestran que el enriquecimiento del tejido vascular en  $\alpha$ -tocoferol protege el endotelio vascular de disfunción mediada por LDL oxidada, al menos en parte, a través de la inhibición de la actividad protein-kinasa C (enzima relacionada con la proliferación celular), lo que sugiere un potencial mecanismo protector independiente del de LDL (Keaney, et al., 1996). Estos datos apoyan los resultados previos, obtenidos por Ozer, et al. (1993) que demuestran inhibición de la actividad protein-kinasa C, así como de la proliferación celular, con concentraciones fisiológicas de  $\alpha$ -tocoferol.

Los resultados de un estudio acerca del papel de la vitamina E sobre el efecto antiaterosclerótico del aceite de pescado, en conejos con hipercolesterolemia inducida por la dieta, sugieren que ambos (vitamina E y aceite de pescado), por sí solos o conjuntamente, atenúan la aterosclerosis en este modelo experimental. Cada uno potencia el efecto del otro, pero se ha observado que cuando la suplementación de vitamina E es insuficiente, los conejos muestran una elevación de la actividad creatina-kinasa (Chen, et al., 1999).

Después de 10 semanas de ingesta de una dieta aterogénica, con un 0.4% de colesterol, los valores plasmáticos de  $\alpha$ -tocoferol descienden desde un  $5.68 \pm 0.30$  hasta un  $1.27 \pm 0.15$   $\mu\text{g/ml}$  en hamsters, acompañados de incrementos de la lesión aórtica por formación de células espumosas derivadas de monocitos-macrófagos. La administración durante otras 10 semanas de  $\alpha$ -tocoferol suprime marcadamente la oxidación *ex vivo* de LDL e inhibe profundamente la formación de células espumosas aórticas. Los efectos antioxidantes sobre las lesiones aórticas se ven atenuados a medida que la concentración de colesterol incrementa en la dieta (0.2, 0.4 o

0.8%), mientras la oxidación de LDL se mantiene inhibida con la misma eficacia. Existe una correlación inversa existente entre el tamaño de la lesión y la concentración plasmática de  $\alpha$ -tocoferol. La elevada sensibilidad de la lesión inicial aórtica al  $\alpha$ -tocoferol en este modelo experimental de hipercolesterolemia con depleción de antioxidantes endógenos, demuestra que el estrés oxidativo puede aparecer como factor causante, aislado de otros, en un modelo *in vivo* de aterosclerosis (Parker, et al., 1995).

Se ha observado que los niveles elevados de malondialdehído (MDA), encontrados en humanos, pueden ser disminuidos por  $\beta$ -caroteno, en presencia o ausencia de  $\alpha$ -tocoferol; no obstante, el  $\alpha$ -tocoferol posee una capacidad antioxidante mayor, pudiendo disminuir dichos niveles, incrementar la resistencia a la oxidación de LDL y la cantidad de autoanticuerpos frente a la LDL oxidada (Meraji, et al., 1997).

La ausencia de correlación entre el contenido de  $\alpha$ -tocoferol en LDL y la resistencia de dicha lipoproteína a la oxidación, observada en un grupo de sujetos sanos, indica que el  $\alpha$ -tocoferol no es el único parámetro que determina la resistencia a la oxidación de LDL (Esterbauer, et al., 1991).

Los efectos protectores de la vitamina E, en lo que respecta a la integridad vascular, parecen deberse a la inhibición de la deposición lipídica y del desarrollo de permeabilidad anormal, asociada ésta con una distribución irregular de proteoglicanos en la pared vascular, tal y como ocurre en cobayas alimentados con colesterol (Qiao, et al., 1993).

### **1.5.2.-OTROS COMPUESTOS ANTIOXIDANTES**

#### **VITAMINA C**

Estudios en humanos, mayoritariamente epidemiológicos, indican una correlación negativa entre la ingesta de vitamina C y enfermedad cardiovascular (Sauberlich, 1994). Esta conexión viene establecida por distintos, aunque interrelacionados mecanismos, al actuar como

un antioxidante protector de LDL frente a una modificación oxidativa, manteniendo la integridad vascular, estando también implicada en la síntesis de prostaciclina vasoactiva.

Thing (1997) muestra una mejora de la vasodilatación dependiente de endotelio tras la administración de vitamina C, en individuos hipercolesterolémicos. Santillo, et al. (1996) observan que la administración de ascorbato ejerce, además de una acción directa sobre la disminución de los lípidos séricos, un papel protector frente al daño peroxidativo de los mismos, en ratas hipercolesterolémicas.

La ingesta subóptima de vitamina C origina en cobayas niveles menores de actividad HMG-CoA reductasa, LDL-c y HDL-c, siendo más elevados para la actividad acil-colesterol-acil-transferasa (ACAT), TG, VLDL/LDL-c. Estos resultados demuestran un patrón de cambio en el colesterol corporal y en el metabolismo de las lipoproteínas, relacionados con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, a consecuencia de la baja ingesta de dicha vitamina (Montano, et al., 1998).

Carr, et al. (2000) indican diferentes mecanismos por los que las vitaminas antioxidantes C y E pueden proteger frente a la aterosclerosis, los cuales incluyen inhibición de la oxidación de LDL e inhibición de la adhesión leucocitaria al endotelio, con la consiguiente disfunción endotelio-vascular. Al respecto, el ascorbato parece ser más efectivo que el  $\alpha$ -tocoferol en la mitigación de los procesos fisiopatológicos, mayoritariamente a causa de sus habilidades para capturar eficazmente un amplio rango de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y para regenerar el  $\alpha$ -tocoferol. Este puede actuar como antioxidante o como pro-oxidante para inhibir o facilitar, respectivamente, la peroxidación lipídica en LDL. No obstante, dicha actividad pro-oxidante es prevenida por el ascorbato, que actúa como coantioxidante. Así, una ingesta óptima de vitamina C o su estatus corporal, pueden ayudar a proteger frente a la aterosclerosis y sus secuelas clínicas.



## **COENZIMA Q (CoQ<sub>10</sub>)**

El coenzima Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) es un importante componente de la cadena transportadora de electrones mitocondrial y ha sido postulada su función como un poderoso antioxidante que protege a la LDL frente al daño oxidativo (van de Vijver, et al., 1999).

La suplementación en la dieta con CoQ<sub>10</sub> incrementa sus niveles en la partícula de LDL, lo que puede en consecuencia, hacerla más resistente a la oxidación. La disminución en la oxidabilidad no conlleva, sin embargo, efecto significativo sobre la función endotelial en pacientes con hipercolesterolemia moderada (Raitakari, et al., 2000).

Se ha encontrado que un aporte de CoQ<sub>10</sub> de 5 mg/kg/día en la dieta durante 30 días incrementa la resistencia a la insuficiencia isquémica en minicerdos, probablemente por reducción del estrés oxidativo (Maulik, et al., 2000).

Conejos alimentados con una dieta que aporta 3 mg CoQ<sub>10</sub>/kg/día, durante 24 semanas muestran un índice de aterosclerosis menor, así como una reducción en el tamaño de estrías y de placas ateroscleróticas que los que no ingieren dicha suplementación, lo que sugiere que la terapia antioxidante con CoQ<sub>10</sub> puede ser un tratamiento adjunto benéfico adicional relacionado con la composición química y calidad del ateroma, independiente de los agentes hipolipidémicos (Singh, et al., 2000).

La administración de dosis de 90 mg CoQ<sub>10</sub> /día parece provocar un descenso en los niveles de TBARS, en sujetos sanos, alimentados con suplementos de aceite de pescado. La presencia de la mayoría del CoQ<sub>10</sub> plasmático en su forma reducida posiblemente se deba al papel antioxidante del CoQ frente al estrés oxidativo, observado en estos individuos (Weber, et al., 1994).

Asimismo, pacientes con enfermedad coronaria aguda muestran una asociación entre la suplementación de CoQ<sub>10</sub> y reducciones significativas de TBARS, MDA y dienos conjugados, lo que indica un descenso del estrés oxidativo. Paralelamente, los niveles plasmáticos de HDL colesterol se ven incrementados significativamente y la concentración de Lp(a) desciende

también, sin afectarse los valores de CT ni de colesterol en LDL con la suplementación de CoQ<sub>10</sub> (Singh, and Niaz, 1999).

El efecto antioxidante del CoQ<sub>10</sub> es similar cuando éste se presenta en su forma reducida (ubiquinol-10) u oxidada (ubiquinona-10), como demuestran Tomasetti, M., et al. (1999), que observan mayor viabilidad celular y menor cantidad de rupturas en el ADN de linfocitos humanos enriquecidos con cualquiera de las formas de CoQ<sub>10</sub>, respecto de las células control. No obstante, dicha suplementación no parece ser responsable directa en la inhibición de los cambios en el ADN.

Se ha venido sugiriendo que el CoQ<sub>10</sub> podría ser un efectivo antioxidante plasmático como regenerador de la vitamina E. La suplementación conjunta de CoQ<sub>10</sub> (200 mg/día) y de vitamina E (700 mg/día) no incrementa el efecto antioxidante de ésta última, en sujetos moderadamente hipercolesterolémicos, lo que indica que su papel como adjunto en la terapia antioxidante con la citada vitamina no es relevante. Sí se observa un descenso de la forma oxidada en plasma, ubiquinol-10, tras la administración de vitamina E. La disminución de esta proporción de ubiquinol plasmático puede representar evidencia *in vivo* de regeneración de radicales tocoferil a partir de CoQ<sub>10</sub> (Kaikkonen, et al., 2000).

## **SELENIO**

El selenio (Se) es un componente importante del sistema de defensa antioxidante endógeno, por lo que una deficiencia en el mismo puede incrementar la sensibilidad de un sistema vivo al estrés oxidativo. Constituye parte integral de la enzima glutation-peroxidasa, que cataliza la reducción de un amplio número de hidroperóxidos lipídicos y de peróxido de hidrógeno, formados a partir de lípidos de membrana, sin detrimento de la economía celular. En la mayoría de estudios de nutrición humana, su ausencia ha mostrado ser la causa de cardiomiopatía observada en la población de la República de China, conocida como enfermedad de Keshna, lo que demuestra la esencialidad de este elemento traza para el hombre (Diplock, 1981).

Jozanov-Stankov, et al. (1998) observan que la suplementación con Se en ratas expuestas a radiación gamma conlleva un efecto protector frente a la oxidación por la misma, con una reducción de la exposición de los componentes del sistema antioxidante.

Ahora bien, Coudray, et al. (1996) indican que los niveles plasmáticos de Se no son un buen índice del estado de éste en el organismo, al menos a altos niveles de dicho elemento. Además, según estos autores, su suplementación no ocasiona un descenso significativo en los marcadores de estrés oxidativo, como los evaluados a través del contenido en malondialdehído (MDA) sanguíneo y tisular, en animales sanos.

Estudios de suplementación combinada de selenio con otros antioxidantes como vitamina E, parecen indicar que éstos inhiben la aterosclerosis en conejos alimentados con una dieta aterogénica, por un mecanismo que es en parte independiente de los efectos sobre las concentraciones de colesterol en plasma y en lipoproteínas (Schwenke and Behr, 1998).

Estudios recientes ponen de manifiesto una relación entre activación de radicales libres derivados del oxígeno y pancreatitis aguda, demostrando una mejoría en el pronóstico de la misma tras la suplementación con Se (selenito sódico) (Kuklinski, et al., 1995; Wollschlager, et al., 1997).

## 2.- MODELOS EXPERIMENTALES Y DIETAS UTILIZADAS

En los últimos años ha incrementado el interés por encontrar modelos animales apropiados para el estudio de los efectos de la dieta sobre los niveles de lípidos plasmáticos y la aterosclerosis (Sullivan, et al., 1993). No obstante, el uso de los mismos está asociado a una serie de desventajas, incluida la ausencia de exactitud con los perfiles lipoproteicos de humanos y con la actividad de enzimas reguladores del colesterol hepático o del metabolismo lipoproteico. Con todo ello, se han empleado numerosos modelos experimentales, tanto humanos como con diversos animales, en el desarrollo e implantación de la hipercolesterolemia a través de la dieta (Fernández, et al., 1999).

McGill and Kushwaha (1995) indican la existencia de un control genético de las respuestas lipémicas al colesterol y a la grasa de la dieta en diferentes modelos experimentales, tanto humanos como de distintas especies animales (conejo, ratón, marsupial, cerdo o mono), que explica la variabilidad en dichas respuestas. Así pues, el mecanismo que controla la respuesta a la dieta varía según la especie y, en humanos, según los individuos, de modo que se identifica un polimorfismo no genético, posiblemente dependiente de la dieta, como responsable de la variabilidad individual.

El cerdo es aceptado como modelo para estudiar la hipercolesterolemia y la aterosclerosis, por su similitud con la especie humana en cualquiera de estas dos áreas (Van Tol, et al., 1991). Junto con el hamster, ha sido enormemente empleado para el estudio de los efectos de la dieta sobre los niveles de lípidos plasmáticos y los mecanismos implicados (Fernández and McNamara, 1991). El cobaya transporta la mayoría del colesterol en la fracción LDL (Fernández and McNamara, 1991), y el hamster desarrolla la aterosclerosis cuando es sometido a una dieta aterogénica (10% en peso de aceite de coco y 0.05% en peso de colesterol) (Otto, et al., 1995).

La ingesta de una dieta enriquecida en colesterol (0.3%) durante 4 semanas ocasiona el desarrollo de hipercolesterolemia en cerdos en periodo de crecimiento, respecto del grupo control (1.75 vs 0.84 g/l), debido a una elevada concentración de LDL, un aclaramiento

retardado de vitamina A en plasma, un incremento en el almacenamiento de colesterol en hígado, una disminución de las actividades hepáticas de los receptores LDL (47%) y de HMGCoA reductasa (62%), así como una mayor actividad de la colesterol 7- $\alpha$ -hidroxilasa hepática (x3) y una excreción fecal de esteroides neutros acelerada (x4) (Ferezou, et al., 1997).

Fernandez, et al. (1995) han desarrollado un modelo experimental de hipercolesterolemia en cobaya por la ingesta de una dieta alta en grasa y con sacarosa, tras someter a los animales a dos dietas con diferente relación grasa/carbohidratos (2,5/58% o 25:29% en peso), con sacarosa o almidón como fuentes de carbohidratos. La hipercolesterolemia se asocia a una mayor actividad de la lecitín-colesterol-acil-transferasa (LCAT), que origina VLDL rica en ésteres de colesterol, la cual, por acción de LPL, puede convertirse en LDL, a través de un descenso en la regulación de receptores apoB/E hepáticos.

Un estudio comparativo en gerbo, hamster y cobaya, empleados como modelos de roedores para la hiperlipidemia, muestra que la administración de una dieta alta en grasa y colesterol (HF/HC) origina un incremento del 370% de la concentración de colesterol total, en todas las especies. La privación de alimento provoca un descenso significativo en los valores de colesterol total de hamsters y gerbos, previamente alimentados con la dieta HF/HC, pero no tiene efecto en animales alimentados con la dieta estándar. Los autores apuestan, a la luz de sus resultados, por el cobaya como el modelo más apropiado para el estudio de la hipercolesterolemia, por su moderada respuesta en colesterol plasmático frente a una dieta HF/HC (Sullivan, et al., 1993).

No existían datos acerca del empleo del gato como modelo experimental en el estudio de la aterosclerosis, a excepción de un artículo publicado en 1970, hasta que Ginzinger, et al. (1997) sometieron a un grupo de gatos domésticos, deficientes en lipoproteinlipasa (LPL), a una dieta moderadamente alta en grasa (30%) y enriquecida en colesterol (3%), durante un periodo de 2-8 meses. Observaron lesiones ateroscleróticas en la pared de los vasos sanguíneos entre el 2º y 4º mes de ingerir dicha dieta, las cuales se mostraron altamente correlacionadas con los niveles de lípidos sanguíneos, entre ellos CT, HDL-c y LDL-c. Este estudio puede proporcionar la base para la evaluación de la susceptibilidad a la aterosclerosis inducida por la dieta, en estos animales.

En ratas sometidas a una dieta con un 25% en peso de aceite de coco, junto a un 1% de colesterol, durante un periodo de 26 días ocasiona niveles elevados de colesterol total en hígado, y de colesterol total y de colesterol en LDL séricos, mientras la concentración de HDL colesterol muestra valores más bajos. Las alteraciones encontradas en lípidos y lipoproteínas séricas recuerdan una situación semejante a la hiperlipidemia tipo IIa en humanos (Zulet, et al., 1999). También se ha observado el desarrollo de hiperlipoproteinemia tipo IIa en ratas, con una dieta enriquecida con aceite de coco (25%) y colesterol (1%) durante un periodo de 42 días (Zulet, et al., 1999).

La ingesta de una dieta elevada en colesterol durante 45 días provoca hipercolesterolemia en ratas, transcurrido este tiempo, junto a niveles elevados de LDL y VLDL colesterol plasmático, así como de LDL oxidada (Bennani, et al., 1999). Asimismo, la ingesta de una dieta alta en colesterol (3%) provoca hipercolesterolemia asociada e infiltración paralela de macrófagos en riñón, en ratas susceptibles al daño glomerular por lípidos (Hattori, et al., 1999).

No obstante, el uso de ratas para el estudio de la aterosclerosis ha declinado, a causa de que se han observado diferencias considerables entre esta especie animal y el modelo humano, entre otras, en respuesta a la dieta, así como en la existencia de más colesterol transportado en HDL en rata, así como por su resistencia a esta enfermedad (Francis, et al., 1999).

Todas las especies de ratón son altamente resistentes a la aterosclerosis. A pesar de ello, se han podido desarrollar líneas de ratón susceptibles a esta enfermedad, a través de mutaciones genéticas inducidas. Por ejemplo, ratones deficientes en apolipoproteína E desarrollan lesiones ateroscleróticas semejantes a las observadas en humanos. Estas son mayores cuando el ratón es alimentado con una dieta elevada en colesterol y en grasa, tipo occidental. Otros modelos prometedores son ratones deficientes en receptores LDL, así como ratones transgénicos, que expresan apolipoproteína B humana y formas mutantes transdominantes de apolipoproteína E. Actualmente, estos modelos son empleados para estudiar la influencia de factores genéticos y ambientales, así como de hormonas y drogas, sobre la patogénesis y el desarrollo de las lesiones ateroscleróticas (Breslow, 1996).

También se ha asociado una ingesta elevada de carbohidratos simples con menores concentraciones de la HDL, en niños hipercolesterolémicos alimentados con dietas bajas en lípidos (Starc, et al., 1998).

Otro modelo experimental empleado para el estudio de hipercolesterolemia inducida por la dieta consiste en administrar un 10% o 20% de aceite de coco en la dieta de pollos de corta edad (14 días), durante 1 o 2 semanas. El grupo alimentado con un 20% de aceite de coco incrementa los niveles de colesterol plasmático a la segunda semana, mientras no se observan diferencias significativas entre los animales que ingieren un 10% de dicho aceite, tras una o dos semanas. Tampoco se muestran cambios significativos en el contenido de colesterol hepático, ni en la actividad de la colesterol HMGCoA reductasa hepática (índice colesterogénico). Este diseño proporciona un modelo perfecto de animales hipercolesterolémicos, sin cambios en su capacidad colesterogénica (Zafra, et al., 1992).

La codorniz japonesa ha sido empleada como modelo susceptible a la aterosclerosis, a través del aporte de dietas con dos niveles diferentes de grasa saturada (6% o 12% de sebo de vaca) y de colesterol (0.05% o 0.5%), durante 9 semanas. Las aves alimentadas con el nivel más elevado de colesterol, bajo o alto en grasa saturada, desarrollaron hipercolesterolemia (Yuan, et al., 1998).

El mono macaco, originario de la India, desarrolla hipercolesterolemia a partir de una dieta alta en grasa y con un contenido elevado en colesterol (0.5%) (Rudel, et al., 1979).

Diversas características del conejo han hecho de él un modelo excelente para el estudio del metabolismo de las lipoproteínas y de la aterosclerosis (Brousseau and Hoeg, 1999). El conejo alimentado con colesterol se ha venido empleando como un modelo de aterosclerosis humana, debido al rápido desarrollo de lesiones ateroscleróticas (Daley, et al., 1994), a pesar de que este animal transporta la mayoría del colesterol en la fracción VLDL, una situación diferente a humanos (Badimon, et al., 1990).

El conejo de raza New Zealand posee bajas concentraciones de colesterol total en plasma, alta actividad de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol, baja actividad de

lipasa hepática y ausencia de un análogo de la apolipoproteína A-II humana, proporcionando un sistema único en el que ensayar los efectos de transgenes humanos sobre las lipoproteínas plasmáticas y la susceptibilidad a la aterosclerosis (Brousseau and Hoeg, 1999).

Animales de esta misma raza, alimentados durante siete semanas con una dieta que contiene un 95.7% de pienso estándar, 3% de manteca y 1.3% de colesterol, desarrollan aterosclerosis (Ramírez Tortosa, et al., 1999).

Otro modelo experimental de hipercolesterolemia es viable en conejos a partir de una dieta enriquecida con un 2% de colesterol, suministrada durante 28 días (Ismail, et al., 1999). También se desarrolla hipercolesterolemia en conejos tras ser alimentados con una dieta aterogénica compuesta por un 0.5% colesterol y 3% aceite de coco, administrada durante 8 semanas (Sun, et al., 1997).



### **3.- ATEROSCLEROSIS EXPERIMENTAL. MODIFICACIONES EN DISTINTOS TEJIDOS**

Diferentes estudios muestran la implicación de distintos tejidos en el proceso aterosclerótico. La aterosclerosis es una patología de carácter sistémico, que implica a todas las arterias del organismo. Generalmente transcurre silencioso, hasta que su progresión afecta a algún órgano (Marti-Vilalta and Marti-Fabregas, 1999).

Si la insuficiencia endotelial o la acumulación de lipoproteínas en la íntima arterial es el acontecimiento inicial, la progresión de la enfermedad se caracteriza por cambios en la neoíntima que favorecen la deposición de lípidos. Las alteraciones en el metabolismo de lipoproteínas pueden también facilitar el desarrollo del daño endotelial (Moore, 1985). Más concretamente, cambios proaterogénicos de lipoproteínas, inducidos por citocinas, pueden contribuir a la relación entre infección/inflamación y aterosclerosis. Estos cambios incluyen alteraciones de proteínas asociadas con el metabolismo de la HDL, tales como apoA-I, o de la lipasa hepática (Khovidhunkit, et al., 2000).

Estudios histopatológicos realizados en perros, cuyos análisis bioquímicos en plasma revelan hipercolesterolemia, indican la presencia de lesiones ateroscleróticas en la aorta, así como en otras arterias que irrigan distintos órganos, como corazón, pulmón, riñón, bazo, páncreas, tracto gastrointestinal, órganos urogenitales, ojos, próstata o vejiga urinaria. Estas lesiones se caracterizan por la deposición de lípidos e infiltración de células espumosas en las capas íntima y media, formando placas fibrograsas, que contienen material mineralizado, colesterol y material sudanofílico. El examen inmunohistoquímico con anticuerpos de apolipoproteína B canina identifica que los lípidos contienen LDL. Dichas características inmunohistoquímicas e histopatológicas son similares a las encontradas en las lesiones ateroscleróticas humanas (Kagawa, et al., 1998).

#### **3.1.-MODIFICACIONES EN EL SISTEMA CARDIOVASCULAR**

La evidencia de que niveles elevados de LDL-c plasmático constituyen un factor de riesgo independiente para la enfermedad cardiovascular viene siendo el aspecto considerado

principalmente en el estudio de factores genéticos y ambientales, implicados en la hipercolesterolemia. Los datos disponibles revelan correlaciones entre un número de componentes alimentarios y niveles elevados de colesterol en plasma, principalmente entre ácidos grasos de la dieta, niveles de colesterol plasmático e incidencia de enfermedad cardiovascular (McNamara and Howell, 1992).

Las lesiones provocadas en sujetos ateroscleróticos resultan de una respuesta excesiva, fibroproliferativa-inflamatoria a varias formas de ataque al endotelio y al músculo liso de la pared arterial. Como se viene indicando, en este proceso participan un gran número de factores de crecimiento, citocinas y moléculas vasorreguladoras (Ross, 1993).

Estudios realizados en conejos con aterosclerosis muestran incrementos en la síntesis de tejido conectivo (colágeno y elastina) en diferentes secciones de aorta y de arteria pulmonar, directamente asociados con el mayor grado de distensión pulsátil, lo que indica que el proceso aterogénico incluye estimulación de la síntesis de colágeno y elastina (Fischer, et al., 1980). No obstante, trabajos posteriores indican en primer lugar, que la hipercolesterolemia sérica no causa un incremento generalizado en la síntesis de colágeno en los diferentes tejidos estudiados (hígado, aorta y pulmón) en estos animales y en segundo lugar, que la hipercolesterolemia tisular no siempre incrementa la síntesis de colágeno en dichos tejidos (Langner and Modrak, et al., 1981).

### **3.2.-MODIFICACIONES EN EL SISTEMA INMUNE**

Existen asimismo trabajos que indican la implicación del sistema inmune en la aterosclerosis. Por un lado, las lesiones ateroscleróticas frecuentemente contienen linfocitos T activados, junto con monocitos y macrófagos (Hansson, et al., 1989; Stemme, et al., 1992). Por otro, las inmunoglobulinas (Ig) están asociadas con las lesiones y, normalmente se presentan anticuerpos específicos para LDL, tanto en humanos como en modelos animales (Palinski, et al., 1989). El sistema inmune clásico, aunque no sea esencial en el desarrollo de la estría grasa, sí puede actuar suprimiendo la progresión de las lesiones (Fyle, et al., 1994).

En el transcurso del proceso ateroclerótico, después del daño endotelial, la interacción célula-célula, y la secreción de factores quimiotácticos y de crecimiento resultantes, inducen el reclutamiento de monocitos a regiones subíntimas, proliferación de células del músculo liso e incremento en la síntesis de proteínas de la matriz. Dicho reclutamiento monocitario se convierte en acumulación de macrófagos, lípidos y, finalmente células espumosas. Se producen, como se ha citado, cambios en el contenido de linfocitos T, indicadores de la presencia de estría grasa, un cambio histopatológico precoz, que determina el desarrollo de aterosclerosis. La progresión de esta lesión ateroclerótica está marcada por la acumulación de capas de células musculares alternantes con macrófagos cargados de lípidos. Las lesiones avanzadas comprometen el diámetro luminal y, por ello, reducen el flujo sanguíneo en arterias y, finalmente participan en los mecanismos que siguen a la oclusión de las arterias implicadas (Massy and Keane, 1996).

Muldoon, et al. (1997) indican que existen diferencias en el sistema inmune de individuos hipo e hipercolesterolémicos, al observar cómo el bloqueo de la síntesis de colesterol hepático por inhibidores de la HMGCoA reductasa (lo que indica niveles de colesterol plasmáticos más bajos) reduce la proliferación de linfocitos en respuesta a mitógenos, así como otros aspectos del sistema inmune, tales como la citotoxicidad de las células NK.

### **3.3.-MODIFICACIONES EN EL SISTEMA RENAL**

Las células del músculo liso vascular y las células del mesangio renal están estrechamente interrelacionadas en cuanto a origen, anatomía microscópica, histoquímica y contractilidad. Estas relaciones sugieren una similitud entre esclerosis glomerular renal y aterosclerosis (Otani, et al., 1999).

Las anormalidades en el metabolismo lipídico parecen jugar, por tanto, un papel patogénico en la enfermedad renal progresiva. Las lipoproteínas son capaces de estimular la síntesis de ADN en las células mensajales e incrementar la síntesis de mitógenos y de proteínas de la matriz (Grone, et al., 1993), por lo que quizá interpreten un papel crítico, mediando el desarrollo de glomerulosclerosis (Grone, et al., 1994). Las lipoproteínas aterogénicas parecen inducir procesos mediados por péptidos citorreguladores, implicados en el desarrollo de la

esclerosis glomerular (Kamanna, et al., 1998). En la mayoría de enfermedades glomerulares humanas se localizan acúmulos de lipoproteínas que contienen apoB o apoE en glomérulos dañados estructuralmente, excepto en casos raros de dislipoproteinemias (Lee and Lee, 1993).

En animales, se ha demostrado que la hipercolesterolemia inducida por una dieta elevada en colesterol puede agravar la progresión de la enfermedad renal en modelos experimentales de insuficiencia renal crónica. En ratas, la hipercolesterolemia inducida por la dieta desarrolla inflamación y fibrosis intersticial renal transcurridas varias semanas, presentándose índices de creatinina en suero elevados, albuminuria, lipoproteínas oxidadas en células tubulares e intersticiales, incrementos significativos de colágeno, acúmulo de lípidos en el interior celular, todo ello, seguido del desarrollo de nefritis intersticial (Eddy, 1996).

Estudios clínicos y experimentales han sugerido que la inhibición de la HMG-CoA-reductasa puede reducir la severidad del fallo renal progresivo, por inhibición de la proliferación de células mensajales y de la producción de quimiocinas implicadas en la biología del macrófago (célula importante en la insuficiencia renal aguda, puesto que estimula la proliferación de células mensajales estimulantes y la glomerulosclerosis) (Nikolic-Paterson, et al., 1994). Estos efectos parecen estar relacionados con una reducción en la producción celular de precursores del colesterol, por lo que la acción protectora puede ser independiente de la disminución de lípidos circulantes (Keane, 1994; Keane, 1996).

Extrapolando los datos de estudios experimentales a las enfermedades renales humanas, se puede asumir que el metabolismo lipídico tiene un impacto significativo sobre la gravedad y progresión de la enfermedad renal, fundamentalmente insuficiencia renal crónica. El tratamiento hipolipidémico (Oda and Keane, 1997), con algunos tipos de PUFA, puede ser importante en la prevención de la progresión de la enfermedad renal (Stevenson and Kaysen, 1999). No obstante, son necesarios estudios clínicos para aclarar este hecho (Shohat, et al., 1993).

Por el contrario, estudios llevados a cabo en conejos por Carroll, Jet al. (1997) sugieren que, a pesar de su estado hipercolesterolémico y de aterosclerosis considerable de estos animales, la ingesta de colesterol no afecta a la vasodilatación inducida por óxido nítrico ni a la

modulación de la vasoconstricción de angiotensina II (ANG II) en la circulación renal. En cerdos, la hipercolesterolemia experimental temprana sí disminuye la respuesta vascular al óxido nítrico (Feldstein, et al., 1999).

### **3.4.-MODIFICACIONES EN EL SISTEMA NERVIOSO**

La aorta se considera la primera arteria alterada, y la que se afecta de forma más severa, en el proceso aterosclerótico, pudiendo llegar a ocasionar un infarto cerebral de etiología desconocida (Marti-Vilalta, et al., 1999).

Las lesiones encontradas en la materia blanca cerebral de individuos de edad avanzada se asocian clínicamente con un empeoramiento cognitivo y demencia, habiéndose encontrado una relación entre aterosclerosis y las citadas lesiones, a pesar de que el proceso aterosclerótico es gradual, que comienza pronto en la vida. De-Leeuw, et al. (2000), encuentran que la aterosclerosis está asociada significativamente con la presencia de lesiones cerebrales periventriculares, en sujetos de edades comprendidas entre 60 y 90 años, observando un incremento lineal del riesgo relativo de que se manifiesten dichas lesiones, de acuerdo con la severidad de la aterosclerosis.

La severidad con que se produce un derrame cerebral se ha correlacionado con un incremento en los niveles de lípidos y colesterol en las distintas fracciones lipoproteicas, determinadas de células aisladas de fluido cerebroespinal de pacientes con isquemia cerebral, poniéndose de manifiesto un perfil aterogénico en dichas células (Honczarenko, et al., 1999).

Walker et al. (1997) observan xantomas cerebrales de varios tamaños, constituidos por cristales de colesterol, lípidos y células espumosas, en el cerebro de ratones de edad avanzada, deficientes en apoE, alimentados con dietas altas en grasa y colesterol. Estos resultados indican que los desórdenes en el metabolismo lipídico pueden inducir cambios patológicos significativos en el sistema nervioso central de estos animales, lo que podría indicar una interacción entre los factores genéticos y la dieta, en la modulación de enfermedades como Alzheimer y otros desórdenes neurodegenerativos, que cursan en humanos con la edad.

### **3.5.-MODIFICACIONES EN EL TEJIDO ADIPOSO**

El tejido adiposo participa fisiológicamente en la respuesta a la hipercolesterolemia en la rata, con incrementos en el contenido en colesterol del adipocito en su forma esterificada (una respuesta muy similar a la encontrada en el hígado de dichos animales, pero distinta a la del músculo esquelético), paralelos a los de colesterol total circulante. No obstante, dicha respuesta parece depender del estado nutricional o metabólico del animal previo a la ingesta de colesterol (Krause, et al., 1979).

### **3.6.-MODIFICACIONES EN EL TEJIDO HEPÁTICO**

El metabolismo del colesterol viene regulado principalmente por el hígado, de manera que los niveles plasmáticos de aquél, ligados a las diferentes lipoproteínas transportadoras del mismo, están determinados por los receptores de LDL a nivel hepático principalmente, ya que posibilitan, como sabemos, la captación e internalización de colesterol en hígado.

El grado de producción, así como de captación de LDL-c son parámetros afectados por una dieta aterogénica. Este mecanismo está influenciado por el tipo de ácidos grasos presentes en la dieta. Así, los SFA disminuyen la actividad del receptor LDL en células hepáticas de hamsters, en concreto los ácidos mirístico (14:0) y palmítico (16:0), ya sea por reducción de los niveles de ARNm del mismo, como se ha demostrado en hamster (Bennet, et al., 1995) o cerdo (Mustad, et al., 1996) o por reducción de su actividad, sin alterar ni el nivel ni el grado de transcripción de su ARNm (Srivastava, et al 1995). El ácido linoleico (C18:2 n-6) sin embargo, cuando es ingerido en el contexto de una dieta moderada en colesterol (0.25%), parece incrementar tanto la síntesis como la actividad del citado receptor en hígado de cerdo (Mustad, et al., 1996). Resultados similares se observan en hepatocitos de hamster, al comparar los efectos del ácido linoleico con los del oleico (Session and Salter, 1995). Los PUFA n-3 ejercen diferentes efectos sobre los receptores de LDL-c, según el conjunto de lípidos aportados en la dieta y según la especie. Así, en hamsters alimentados con dietas libres de colesterol y de grasa saturada, estos ácidos grasos no ejercen efecto alguno, mientras que la ingesta elevada de SFA y colesterol, junto a la de PUFA n-3, provoca un descenso en la actividad del receptor de LDL a

nivel pretraslacional. Esta misma dieta incrementa en ratas la captación de LDL vía receptor, sin afectar a su ARNm (Spady, et al., 1995).

La ingesta continuada de una dieta aterogénica genera un hígado graso. Del Moral, et al. (1997) muestran resultados histológicos y bioquímicos de esteatosis hepática en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa, ya sea ésta procedente de aceite de oliva o de girasol.

En el cobaya, la calidad de la grasa de la dieta ejerce un claro efecto sobre los niveles de colesterol total y libre hepáticos, tanto a bajos (7.5%) como a altos (15%) niveles de grasa total en la misma, que se presentan mayores, aunque con bajas ingestas no se observan diferencias significativas, y sí se encuentra significación estadística para altos niveles de aceite de oliva y de maíz, en un 39 y 28% respectivamente. Los ésteres de colesterol, se muestran significativamente menores para altas y bajas ingestas de grasa en el grupo alimentado con manteca de cerdo. Además, la cantidad de grasa afecta los niveles de colesterol libre, con incrementos significativos para los grupos oliva y maíz que ingieren un 15% de grasa total (Fernández and McNamara, 1991)

En este mismo estudio se observa un mayor número uniones de LDL a las membranas hepáticas, mediadas por receptor, tanto a bajos (7.5%) como a altos (15%) niveles de grasa en su dieta, cuando ingieren aceite de maíz, respecto de animales que ingieren dietas a base de aceite de oliva o de manteca de cerdo, los cuales muestran entre sí valores similares en dicho parámetro (Fernández and McNamara, 1991).

El aceite de palma oxidado, altamente aterogénico, induce en humanos organotoxicidad y toxicidad reproductiva en hígado, así como en riñón, pulmón y corazón (Ebong, et al., 1999).

También se ha observado que la ingesta de dietas con colesterol y elevadas en SFA o en MUFA provocan mayores acúmulos de ésteres de colesterol en hígado de monos que cuando se alimentan con dietas altas en PUFA (Rudel, et al., 1997).

Un estudio en hamsters muestra aumentos en los niveles hepáticos de colesterol esterificado tras la ingesta de ácido oleico, a la vez que se observa una disminución en el

contenido en LDL-c plasmática, así como una inhibición de su producción (Woollett, et al., 1994).

La sobreexpresión de apoE hepática puede ser un mecanismo terapéutico frente a la aterosclerosis, tal y como se demuestra en ratones deficientes en el receptor de LDL (Tsukamoto, et al., 2000).

En el conejo se muestran resultados que indican que los PUFA del aceite de pescado pueden ser hepatotóxicos. Incrementos en la dieta de los niveles de dicha fuente grasa provocan un mayor daño hepático, junto a un incremento en la superficie de la placa aórtica (Ritskes-Hoitinga, et al., 1998).

Estudios recientes con conejos alimentados a base de una dieta alta en grasa saturada (3% manteca de cerdo) y colesterol (1.3%), desarrollan aterosclerosis experimental (Aguilera, 1999). Como consecuencia, se observan modificaciones, entre otras, a nivel hepático:

- La dieta aterogénica provoca incremento significativo en el peso hepático, así como en la relación peso hepático/peso corporal, respecto del grupo control, que recibe una dieta estándar de laboratorio.
- Todas las fracciones de componentes lipídicos estudiadas (CT, CL, CE, FL y TG) aumentan de manera significativa respecto del grupo sano.
- El perfil de ácidos grasos muestra índices SFA y PUFA significativamente menores y mayores de MUFA, respecto del grupo control.
- A nivel microsomal, el contenido en colesterol incrementa significativamente en conejos enfermos, al igual que ocurre con la relación colesterol/fosfolípidos (C/FL) y con el índice SFA y el porcentaje de 16:0, que concurre paralelo al descenso, también significativo, de PUFA 18:2 (n-6) y 18:3 (n-3).
- En mitocondrias, el contenido en colesterol tiende al incremento en el grupo aterogénico, paralelo al aumento en la relación C/FL. Las cantidades de CoQ<sub>10</sub>, retinol y  $\alpha$ -tocoferol disminuyen con la enfermedad. La formación de hidroperóxidos inducidos se muestra significativamente superior en animales enfermos, a la vez que se observa una



respuesta variada del sistema enzimático de defensa antioxidante, al incrementar significativamente algunas de ellas, ejercer el efecto contrario otras o no ocasionar cambio alguno las restantes. El perfil de ácidos grasos mitocondriales se muestra opuesto al encontrado en microsomas .

- Los análisis histopatológicos muestran acúmulos lipídicos intracitoplasmáticos (macro y microvacuolas) progresivos desde el área perivenular hasta el área periportal del hepatocito, a consecuencia de la ingesta de la dieta aterogénica, con claras diferencias significativas respecto de los animales sanos. También se observa desarrollo de esteatohepatitis, con la presencia de neutrófilos perimorfonucleares a consecuencia de la enfermedad. La hepatotoxicidad, manifestada por la presencia de atipia celular, bilis intrahepatocitaria e intracanalicular y proliferación ductular, es mayor con la ingesta de la dieta aterogénica. Finalmente se observan macrófagos intimaes en vasos de pequeño calibre, aunque las diferencias respecto del grupo sano no se muestran significativas.

Otro estudio, realizado en ratas alimentadas con aceite de oliva (MUFA) y de coco (SFA) presenta mayor protección frente a la peroxidación lipídica en microsomas hepáticos, respecto del grupo que ingiere aceite de soja (PUFA) (Nardini, et al., 1992). Esto es debido al efecto de los distintos ácidos grasos de la dieta sobre el sistema antioxidante en hígado.

La ingesta de una dieta alta en grasa provoca un aumento en los índices de oxidación mayores, medidos por hidroperóxidos, dienos conjugados o TBARS, en mitocondrias hepáticas, paralelos al descenso en CoQ<sub>10</sub> y vitamina E, en conejos ateroscleróticos (Ramírez, et al., 1997; Quiles, et al., 1998).

Diferentes modelos de aterosclerosis experimental, desarrollados en ratones y en conejos, muestran valores distintos en la disminución de las diferentes actividades antioxidantes hepáticas (catalasa, superóxido-dismutasa, glutatión-peroxidasa, glutatión-reductasa y glutatión-transferasa) según sean los niveles y tipo de ácidos grasos presentes en la dieta (Chen, 1993) así como los de colesterol (Irizar and Ioannides, 1998).

Así pues, los PUFA procedentes de la dieta provocan un incremento de las citadas actividades enzimáticas en conejos (De Craemer, D., 1993; Nanji, et al., 1995; Crhiston, et al.,

1995). Estudios comparativos acerca de los efectos de PUFA n-3 y n-6, indican que los primeros ejercen un incremento mayor de dichas actividades, concretamente sobre la expresión de genes que codifican para las mismas (Venkatraman, et al., 1994; Van Noorden, 1995; Venkatraman, et al., 1998).

### **3.7.-MODIFICACIONES EN EL SISTEMA BILIAR**

Un gran número de estudios en animales y humanos han puesto de manifiesto los efectos de la grasa de la dieta sobre el metabolismo del colesterol y de los ácidos biliares (AB) (Campbell, et al., 1972; Turley and Dietschy, 1979; Redinger, et al., 1973; Turley, et al., 1983), pero existe escasa información acerca de la capacidad que poseen la cantidad y el tipo de grasa alimentaria sobre la formación de bilis y la colestasis. El metabolismo de los ácidos biliares puede verse alterado a consecuencia de irregularidades en el funcionamiento hepático, debidas éstas, entre otras, a la hipercolesterolemia y al estado aterosclerótico, pudiendo ocasionar la formación de piedras o cálculos en la vesícula biliar (Sternby, et al., 1968; Kern, et al., 1983, Cohen, et al., 1992; Trautwein, et al., 1993).

En general, los animales alimentados con una dieta libre de grasa muestran un marcado descenso del flujo biliar y de la bilis canalicular (Turley, et al., 1983; Sarfeh, et al., 1974). La ingesta de dietas altas en grasa, particularmente de las que contienen PUFA, incrementa el flujo de bilis y la producción de ácidos biliares (Campbell, et al., 1972; Redinger, et al., 1973; Ramesha, et al., 1980; Balasubramaniam, et al., 1985; Knox, et al., 1991), atribuyendo dicho incremento de flujo a un mayor tamaño del pool de ácidos biliares. Los PUFA de la serie n-3 se comportan de manera semejante en primates (Scobey, et al., 1991), humanos (Berr, et al., 1992) y hamsters (Berr, et al., 1993), mientras la rata muestra resultados opuestos (Balasubramaniam, et al., 1985; Ballesta, et al., 1992; Smit, et al., 1994), en cuanto a su efecto sobre el contenido y secreción biliar, desconociéndose en conejos de qué manera afectan estos ácidos grasos a la excreción de ácidos biliares. Sí se ha demostrado que el porcentaje molar de ácidos biliares en conejos ateroscleróticos, alimentados con aceite de pescado, es menor al observado con la ingesta de aceites de oliva (virgen y refinado) o de girasol (Aguilera, 1999). La administración de niveles elevados de colesterol también incrementa el flujo biliar (Smit, et al., 1993; Monte

and Jiménez, 1993). Aguilera (1999) indica, sin embargo, un descenso en el porcentaje molar de ácidos biliares en conejos que ingieren una dieta aterogénica.

No existen datos definitivos acerca del efecto de la grasa saturada sobre los diferentes parámetros lipídicos biliares, aunque se apuntan cambios tanto en el contenido como en la secreción de bilis. Así, en hamsters, la incidencia en la formación de cálculos biliares en la vesícula parece ser mayor, aunque sin diferencias significativas, tras la ingesta de aceite de palma, al ser comparada con los grupos oliva, girasol, mantequilla, coco o colza (Trautwein, et al., 1997). Bravo, et al. (1998) observan en ratas que la eliminación de colesterol vía biliar es menor en animales alimentados con SFA que los que ingieren UFA; asimismo, demuestran una mayor actividad colesterol-7-alfa-hidroxilasa en este último grupo. La expresión del gen que codifica para esta enzima, *cyp 7*, se ve modificada en ratones de forma distinta tras la adición de colesterol a la dieta, según sea ésta alta en PUFA o en MUFA (Cheema, et al., 1997).

El tipo de ácido graso presente en la grasa alimentaria también ejerce un efecto importante en la formación de bilis (litogénesis), de modo que los SFA (12:0, 14:0 y 16:0) provocan un incremento mayor en su síntesis que el MUFA 18:1(n-9), en hamsters alimentados con colesterol (0.4%) (Jonnalagadda, et al., 1995).

En conejos ateroscleróticos, el índice litogénico es significativamente mayor (2.52%) al encontrado en animales sanos (<1%). La ingesta de aceites de oliva (virgen y refinado) disminuye dicho valor, aproximándose al grupo control, mientras que la ingesta de aceites de girasol y de pescado provocan valores de 1.35 y 2.12% respectivamente, mostrando, por ello, el grupo alimentado con aceite de pescado, diferencias significativas frente al grupo sano (Aguilera, 1999).

### **3.8.-MODIFICACIONES EN EL TEJIDO PANCREÁTICO**

Los estudios existentes acerca del papel de la aterosclerosis inducida por la dieta sobre los cambios sufridos en la estructura y funcionalidad de la glándula pancreática son muy escasos. No obstante, más adelante se trata con mayor detalle este aspecto.

Al respecto, cabe citar los trabajos realizados por López, et al. (1996), pues sugieren que las concentraciones elevadas de colesterol sérico y el incremento en la actividad de la lipasa pancreática pueden causar acumulación de ésteres de colesterol en las células acinares. La acumulación de grasa en el páncreas puede ser responsable de efectos citotóxicos sobre las células acinares a nivel de membrana celular.

### **3.9.-FENÓMENOS DE PROLIFERACION CELULAR (CÁNCER) ASOCIADOS A LA COLESTEROLEMIA**

La relación entre los niveles de colesterol plasmático y el desarrollo de enfermedad es más compleja de lo que parece. La cantidad y tipo de grasa, así como la densidad energética aportadas en la dieta, pueden influir en la incidencia de tumor. Mientras el papel patogénico de la hipercolesterolemia en la isquemia cardiaca es indiscutible, el efecto deletéreo de la hipocolesterolemia inducida por la dieta, principalmente sobre la mortalidad por cáncer es objeto de controversia (Schlienger, et al., 1998). Behar, et al. (1997) apuntan al cáncer como causa más frecuente de muerte no cardiaca, asociada con bajos niveles de colesterol sérico. No obstante, la hipocolesterolemia no parece ser un factor causal. Estudios poblacionales en ambos sexos refuerzan la idea anterior, indicando que una baja colesteroemia parece ser un marcador para la predisposición o bien el resultado, aunque no la causa, de cáncer (Guize, et al., 1998). Igualmente, Julinson, et al. (1995) indican que, en pacientes con leucemia, el tratamiento de esta enfermedad revierte la hipocolesterolemia, lo que sugiere que el estado hipocolesterolémico es ocasionado a consecuencia de esta enfermedad.

Trieu and Uckun (1999) corroboran la hipótesis previa de que la hipercolesterolemia puede ser protectora frente al cáncer, al observar que la acumulación de LDL suprime el crecimiento o desarrollo del tumor, en ratones hipercolesterolémicos. Los resultados obtenidos por Forones, et al. (1998) demuestran una asociación entre los niveles de colesterol plasmático y la incidencia de cáncer colorrectal. Ahora bien, el papel de la grasa de la dieta como promotor de cáncer puede ser modificado por otros componentes nutricionales. Lo correcto, en lo que concierne al tratamiento de la misma, sería un abordaje prudente de la hipercolesterolemia, pero sin alteraciones especiales de las recomendaciones recientes (Schlienger, et al., 1998).

#### **4.- GRASA DE LA DIETA Y MEMBRANAS BIOLÓGICAS**

Numerosos estudios demuestran, como se verá más adelante, la capacidad adaptativa de las membranas celulares a la grasa ingerida a través de la dieta. Dicha propiedad es asociada con la naturaleza estructural y funcional de las mismas, que permite cambios de composición y, en consecuencia, repercusiones en su funcionamiento, pudiendo explicar así la aparición de mecanismos fisiopatológicos relacionados con la grasa de la dieta.

##### **4.1.-COMPOSICIÓN DE LAS MEMBRANAS CELULARES**

La membrana plasmática es una estructura dinámica, constituida principalmente por moléculas lipídicas, que conforman una bicapa, y proteínas, así como carbohidratos, ligados a ellas mediante enlaces covalentes y otras moléculas liposolubles (vitamina E, CoQ, carotenoides, etc).

###### **4.1.1.-BICAPA LIPÍDICA**

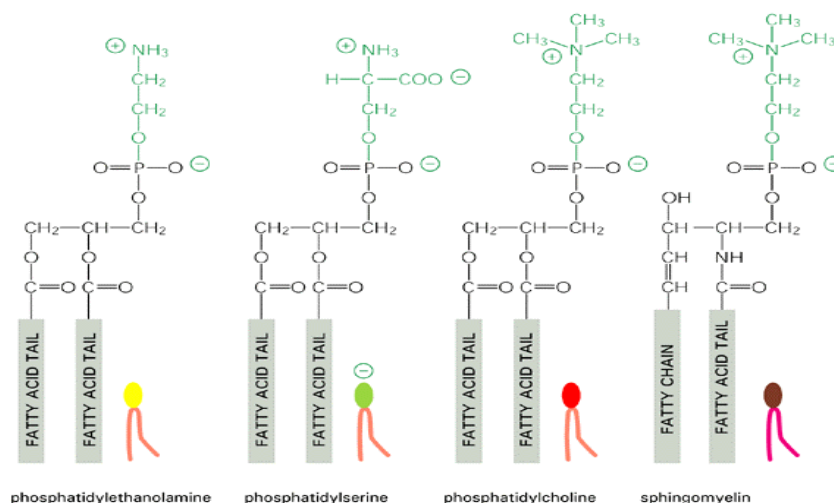
En 1925, Gorter y Grendel, tras estudios realizados en membranas de eritrocito, sugirieron que la membrana era lipídica y consistía en una doble capa de lípidos. A finales de 1950, Robertson logró las primeras micrografías electrónicas, que mostraron la membrana plasmática como una estructura de tres capas, compuesta por dos capas de color oscuro, orientadas hacia fuera y en medio una capa de color claro. Todas las membranas que se examinaron con detalle, ya fueran plasmáticas, nucleares o citoplasmáticas, así como las tomadas de las plantas, animales o microorganismos, mostraron esta misma ultraestructura.

La bicapa lipídica está firmemente establecida como base universal de la estructura de la membrana celular. A través de microscopía electrónica se puede observar rápidamente, aunque se requieren técnicas especializadas, tales como difracción de rayos X y microscopía electrónica de fractura congelada para revelar los detalles de dicha organización.

La presencia de moléculas lipídicas en la bicapa tiene consecuencias en la estructura y funcionamiento de la célula, puesto que las propiedades fisiológicas de la membrana se van a ver determinadas por aquéllas.

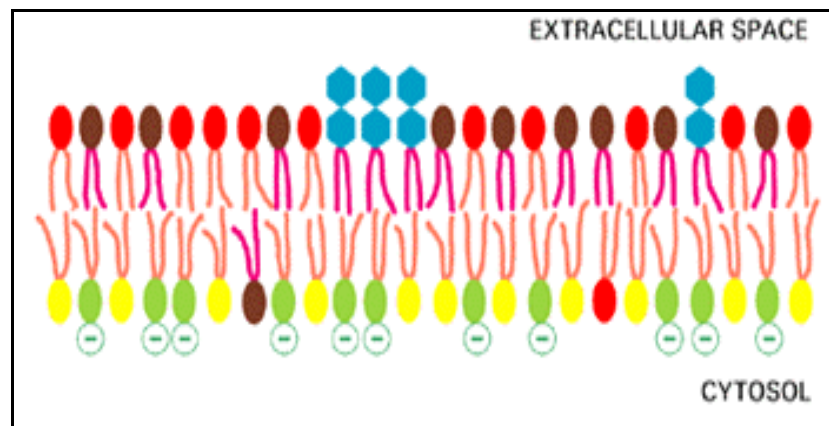
Los lípidos pueden estar lateralmente distribuidos de manera heterogénea a través de la membrana, de modo que, cambios en esta distribución pueden ser responsables de los efectos sobre las proteínas. También existe una evidencia creciente de que las interacciones específicas entre moléculas individuales y proteínas de membrana pueden modular la función de éstas (Smith and Stubbs, 1987).

Los lípidos de membrana más abundantes son los fosfolípidos o fosfoglicéridos, más concretamente diglicéridos, constituidos por un esqueleto de glicerol, dos ácidos grasos ligados a dos grupos hidroxilo (OH) y un grupo fosfato ligado al tercer OH. En función del grupo hidrófilo adicional que se une al fosfato, ya sea serina, etanolamina, colina o esfingosina, los fosfoglicéridos serán fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilcolina o esfingomielina, respectivamente (Figura 2).



**Figura 2:** Representación de los cuatro principales fosfolípidos constituyentes de las membranas plasmáticas de mamíferos: fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilcolina y esfingomielina. Los grupos situados en las cabezas, que son diferentes, se representan con símbolos distintos.

Esta estructura en bicapa se caracteriza: (a) por su *asimetría*, puesto que la composición de fosfolípidos y glucolípidos de una monocapa difiere considerablemente de la composición de la otra monocapa, lo que condiciona su aspecto interno y externo (Figura 3); dicha asimetría se genera con la síntesis de la misma, a partir del retículo endoplásmico, y (b) por su *impermeabilidad selectiva*, lo que significa que en su papel como barrera de control frente al intercambio de sustancias, no es igualmente permeable a todo tipo de solutos (Bruce, et al., 1999). La velocidad con que se lleva a cabo el transporte transmembrana es dependiente, entre otros factores, del tamaño y solubilidad de las sustancias.



**Figura 3:** Distribución asimétrica de fosfolípidos y glicolípidos en la bicapa lipídica de células de eritrocito humano. Los símbolos empleados para los fosfolípidos son los introducidos también en la figura 2. Los glicolípidos se representan en azul, con una cabeza polar hexagonal. El colesterol (no representado) está distribuido de igual manera en ambas monocapas.

El mantenimiento del grado de fluidez de la membrana, esto es, de la facilidad de movimiento de los lípidos dentro de la misma, es importante para su funcionalidad, y depende de dos factores relacionados entre sí, *temperatura* y *composición en ácidos grasos* de sus fosfolípidos. La presencia de componentes lipídicos como los esteroides, y en concreto el *colesterol*, también afecta a la fluidez de membrana (Karp, 1996).

A su vez, esa composición en ácidos grasos viene determinada por el grado de insaturación de los mismos, esto es, depende del contenido en dobles enlaces, concretamente en posición *cis*. Un ácido graso de la membrana puede estar completamente **saturado** (carece de dobles enlaces), **monoinsaturado** (un solo doble enlace) o **poliinsaturado** (más de un doble

enlace). A menudo los diglicéridos contienen una cadena de ácido graso insaturada y otra saturada. Las moléculas de fosfolípido con cadenas saturadas presentan una compactación más firme que las que poseen cadenas insaturadas, por lo que a mayor grado de insaturación de los ácidos grasos de la bicapa, menor será la temperatura necesaria para obtenerla en estado de gel (punto de fusión más bajo) (Tabla 2).

<i>Ácido graso</i>	<b>Número dobles enlaces</b>	<b>Punto fusión (°C)</b>
<i>Esteárico</i>	<b>0</b>	<b>70</b>
<i>Oleico</i>	<b>1</b>	<b>13</b>
<i><math>\alpha</math>-linoleico</i>	<b>2</b>	<b>-9</b>
<i>Linolénico</i>	<b>3</b>	<b>-17</b>

**Tabla 2:** Punto de fusión de distintos ácidos grasos en función del número de dobles enlaces

Una disminución de temperatura incrementa la relación de ácidos grasos insaturados/saturados de la membrana, con objeto de mantener su estado fluido. Su regulación se trata de un mecanismo de homeostasis a nivel celular, como se ha podido demostrar en diferentes tipos de organismos (mamíferos en estado de hibernación, peces con variación de la temperatura nocturna, plantas resistentes al frío o bacterias que viven en aguas termales). En ellos se producen una serie de modificaciones en determinados ácidos grasos, por desaturación de enlaces simples para obtener dobles enlaces. La introducción de dobles enlaces en los ácidos grasos de las células animales es llevada a cabo por un equipo enzimático constituido por desaturasas, en las posiciones  $\Delta^4$ ,  $\Delta^5$ ,  $\Delta^6$  y  $\Delta^9$ , que dan nombre a las mismas.

No obstante, cuando la temperatura se eleva considerablemente, se deprime la actividad de las citadas enzimas. Asimismo, si la fluidez aumenta por encima de los niveles óptimos, la actividad de estas desaturasas disminuye (Kasai, et al., 1976).



La síntesis de MUFA, se realiza a partir de SFA en distintos tejidos. El sistema enzimático  $\Delta^9$  desaturasa, localizado en el retículo endoplasmático, cataliza la conversión de palmítico y esteárico a palmitoleico y oleico respectivamente. Los ácidos grasos saturados de la dieta parecen potenciar el efecto de esta enzima (Seiquer, et al., 1995), mientras que el ácido linoleico lo disminuye (Kouba and Mourot, 1998). Existen diversos trabajos que muestran un control del gen que codifica para  $\Delta^9$ , por parte de la grasa de la dieta (Douaire, et al., 1992). Trabajos posteriores demuestran un mayor grado de cambio a nivel transcripcional que en la actividad de dicho enzima (Lochsen, et al., 1999).

La  $\Delta^6$  desaturasa interviene sobre los ácidos linolénico, linoleico y oleico, por orden creciente de afinidad respectivamente, su regulación corre a cargo, por una parte, del producto final (que suelen ser ácidos grasos de cadena larga) y por otra, por saturación de sustrato. Así pues, se ha comprobado un descenso en su actividad por la presencia de niveles elevados de PUFA de la serie n-3 (Schrijver and Privett, 1982), siendo inhibida por DHA (Actis Dato and Brenner, 1970).

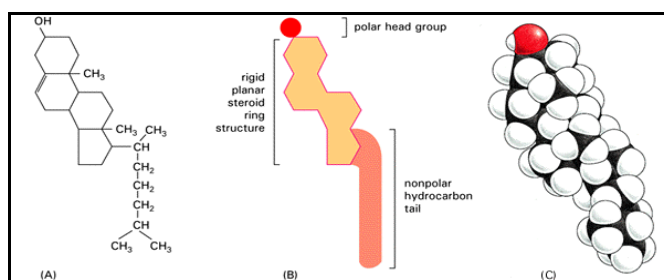
La disminución de ácido araquidónico a nivel de membrana de eritrocito en perros, cuando el aporte exógeno de ácido linoleico es elevado, probablemente sea debido a la inhibición de la enzima  $\Delta^6$  desaturasa (o  $\Delta^5$  desaturasa) y/o de su correspondiente elongasa (Girón, et al., 1989).

Los ácidos grasos de las series n-3 y n-6 compiten por la enzima, de modo que distintos autores indican una inhibición del desarrollo de la serie n-3 cuando lo hace la enzima, debido a un aporte de aceite de girasol como fuente grasa alimentaria. Sin embargo, Brenner (1981) indica mayor afinidad enzimática por el ácido  $\alpha$ -linolénico.

La  $\Delta^5$  desaturasa sintetiza los ácidos araquidónico, eicosapentaenoico y eicosatrienoico, a partir de los compuestos originados por la  $\Delta^6$  desaturasa. Su actividad parece estar reducida por el contenido graso del cuerpo, al contrario de lo que ocurre con la  $\Delta^9$  desaturasa (Pan, et al., 1994) y por los PUFA de la dieta (Keelan, et al., 1997). La  $\Delta^4$  desaturasa utiliza los productos

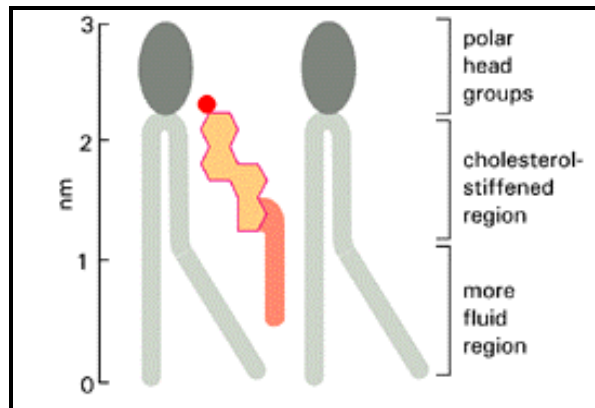
formados a partir de la  $\Delta^5$  desaturasa, sintetizando los ácidos docosahexaenoico y docosapentanoico.

Por otra parte, las membranas plasmáticas eucariotas contienen cantidades considerables de colesterol que, en determinadas células animales, puede constituir hasta un 50% de las moléculas lipídicas de la membrana plasmática (las células vegetales y de bacterias carecen de ella). Su tamaño es menor que el de los demás lípidos de membrana, y, a su vez, menos anfipático.



**Figura 4:** Estructura del colesterol. El colesterol está representado por una fórmula en (A), por un esquema gráfico en (B) y como un modelo molecular empaquetado en el espacio en (C).

Por ser una molécula de naturaleza enormemente hidrófoba, el colesterol no puede, por sí solo, constituir una estructura laminar, de manera que se intercala entre los fosfolípidos, disponiendo su grupo esteroide enfrentado a las cadenas de ácidos grasos (Figura 4), interaccionando con ellos e inmovilizándolos. Su grupo hidrófilo se dispone hacia la superficie de la membrana, en contacto con la solución acuosa, cercano a las cabezas polares de los fosfolípidos y su extremo hidrófobo integrado en la bicapa (Figura 5).



**Figura 5:** Disposición de la molécula de colesterol en una bicapa lipídica. Esquema gráfico de una molécula de colesterol interaccionando con dos moléculas de fosfolípidos en una mitad (monocapa) de la bicapa lipídica.

Las moléculas de colesterol obstaculizan las propiedades de permeabilidad de dicha bicapa, haciéndola menos deformable en su región. Aunque tienda a disminuir la fluidez de la misma, a las concentraciones tan elevadas en que se encuentra en las membranas eucariotas, el colesterol también previene a las cadenas hidrocarbonadas de reunirse y cristalizar, alterando la compactación de las mismas.

A partir de células nucleadas animales se han podido aislar y caracterizar bioquímicamente alrededor de diez clases de membranas, presentando todas un mismo patrón de organización molecular, aunque con diferente composición de lípidos y proteínas, de acuerdo con sus diversas procedencias y funciones. Así pues, las membranas del retículo endoplasmático, complejo de Golgi, mitocondrias y demás orgánulos subcelulares, mantienen características diferenciales de composición y función entre sí. Estas membranas internas actúan mucho más que como barrera: sutiles diferencias entre ellas, especialmente en cuanto a las moléculas proteicas que las forman, son las principales responsables de otorgar a cada orgánulo su carácter diferencial (Bruce, et al., 1994).

En la Tabla 3 se muestra la composición lipídica de varias membranas celulares, procedentes de distintos órganos en el ser humano, así como de *E. coli*.

PORCENTAJE DE LÍPIDOS TOTALES POR PESO						
LÍPIDO	Membrana plasmática Hígado	Membrana plasmática Eritrocito	Mielina	Mitocondria (membrana interna y otras)	Retículo Endoplásmico	E. coli
Colesterol	17	23	2	3	6	0
Fosfatidiletanol amina	7	18	15	35	17	70
Fosfatidilserina	4	7	9	2	5	traza
Fosfatidilcolina	24	17	10	39	40	0
Esfingomielina	19	18	8	0	5	0
Glicolípidos	7	3	28	traza	Traza	0
Otras	22	13	8	21	27	30

**Tabla 3:** Composición lipídica aproximada de diferentes membranas celulares

#### 4.1.2.-PROTEÍNAS DE MEMBRANA

La mayor parte de las funciones específicas que se llevan a cabo en la membrana plasmática las realizan las proteínas de membrana. Este aspecto ha sido estudiado también en la membrana de la célula acinar pancreática, como veremos más detalladamente en el capítulo dedicado a la misma.

Las moléculas proteicas constituyen aproximadamente el 50 % de la masa total de la mayoría de membranas, el otro 50 % corresponde a los lípidos, incorporándose en cantidades relativamente pequeñas los carbohidratos. Su tamaño es bastante mayor que el de las moléculas lipídicas, por lo que la membrana estará constituida por una relación proteína/lípido de 1/50.

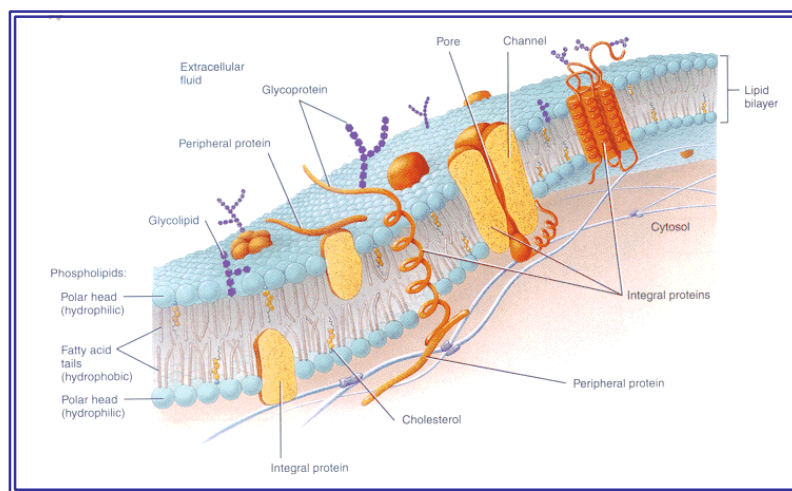
En función del grado de relación con la bicapa, estas proteínas se clasifican como:

(a) *Proteínas integrales de membrana o proteínas transmembrana*: Penetran en la bicapa de lípidos, atravesándola por completo, por lo que presentan dominios que sobresalen a ambos lados de la membrana. Pueden atravesarla como hélices  $\alpha$  sencillas, hélices  $\alpha$  múltiples o láminas  $\beta$  cerradas. Estas proteínas presentan dos regiones, una hidrofóbica y otra hidrofílica.

(b) *Proteínas periféricas de membrana*: Se caracterizan por ser solubles en soluciones acuosas y se unen a la membrana de manera directa (por interacciones con los grupos de las

cabezas polares de los lípidos) o indirectamente (por interacciones con proteínas integrales de membrana, mediante enlaces covalentes).

(c) Proteínas ancladas a lípidos: Localizadas completamente fuera de la bicapa lipídica, pero unidas a ella a través de uno o más enlaces covalentes con grupos lipídicos situados en el interior de la bicapa.



**Figura 6:** Representación esquemática de una membrana plasmática

#### **4.2.-FUNCIONES DE LAS MEMBRANAS CELULARES**

Han sido atribuidas distintas funciones a las membranas celulares, entre ellas:

a.- **Compartimentalización**, pues alberga contenidos intracelulares en los que se llevan a cabo funciones específicas.

b.- **Barreras selectivamente permeables**, en función de la naturaleza de los compuestos que las atraviesan.

c.- **Transporte de solutos**, generalmente por gradiente de concentración.

d.- **Lugar de actividades bioquímicas**, proporcionando el medio adecuado para ellas.

e.- *Transducción de energía*, por su intervención en mecanismos de conversión de un tipo de energía en otro, tal como ocurre en la transformación de energía química de grasas y carbohidratos en ATP.

f.- *Interacción intercelular*, como mediadoras en procesos de intercambio, adhesión, información y reconocimiento celular.

g.- *Transducción de señales*. Se trata de una función de respuesta celular frente a estímulos que recibe del exterior. Esto es posible gracias a la presencia en las membranas de moléculas con estructura específica (**receptores**), que se unirán a otras (**ligandos**), con estructura complementaria. Puede ocurrir que la interacción ligando-receptor incite a la membrana a generar una señal de estimulación o de inhibición de actividades en el interior de la célula. Este aspecto lo consideramos más precisamente en el apartado correspondiente a las membranas acinares del páncreas exocrino.

#### **4.3.-ADAPTACIÓN DE LAS MEMBRANAS CELULARES A LA GRASA DE LA DIETA**

##### **4.3.1.-ADAPTACIÓN DE LAS MEMBRANAS A LA CANTIDAD DE GRASA DE LA DIETA**

Los estudios existentes acerca del efecto que la *cantidad de grasa* ingerida ejerce sobre las membranas celulares no clarifican del todo este hecho. Resultados obtenidos por Gupta, et al. (1993) sugieren que, cantidades elevadas de grasa en la dieta afectan a la composición lipídica de las membranas de ratones adultos.

Otros estudios demuestran que la ingesta de dietas libres de grasa (<1%), en las que ésta es sustituida por carbohidratos, y con la relación recomendada de SFA/UFA, induce cambios en la composición de ácidos grasos de membranas de cerebro, corazón, hígado y eritrocito de rata. Las diferencias más pronunciadas se observan en tejido hepático. Como consecuencia de este tipo de dieta, los lípidos totales presentan un menor contenido en ácido linoleico y otros ácidos

grasos poliinsaturados (araquidónico, AA, C20:4<sub>n-6</sub>; eicosapentaenoico, EPA, C20:5<sub>n-3</sub>; docosahexaenoico, DHA, C22:6<sub>n-3</sub>). Paralelamente incrementan los niveles de ácidos grasos monoinsaturados sintetizados endógenamente (palmitoleico, 16:1<sub>n-9</sub> y oleico, 18:1<sub>n-9</sub>), a partir de los saturados (Delas, et al., 1999). Estos resultados corroboran los obtenidos previamente por Dannenberg and Zakim (1992) en membranas microsomales de rata, que demuestran igualmente la asociación de una dieta libre de grasa con niveles menores de los ácidos araquidónico y linoleico, y mayores de palmitoleico y oleico, entre otros. Ambos trabajos demuestran que las células compensan la ausencia de ácidos grasos esenciales por síntesis endógena, para aminorar los efectos de la ingesta insuficiente de los mismos y de grasa total.

Sin embargo, Lewis, et al. (1981) observan que, ni la ingesta de una dieta elevada en grasa ni el ayuno, causan cambios detectables en la composición lipídica y proteica de la membrana plasmática de adipocito, en ratas.

#### ***4.3.2.-ADAPTACIÓN DE LAS MEMBRANAS AL COLESTEROL DE LA DIETA***

Se ha observado que las membranas eritrocitarias enriquecidas en colesterol requieren un tiempo significativamente menor para el paso de sustancias a través de los microporos, que aquellas con valores normales de colesterol, observándose una deformación de estos microporos bajo condiciones *in vivo* e *in vitro* (Kanakaraj and Singh, 1989); esto indica una respuesta adaptativa de dichas membranas al colesterol alimentario.

La hipercolesterolemia inducida en conejos por ingesta de una dieta rica en colesterol (0.5%) durante 60 días ocasiona un cambio en la composición de ácidos grasos de membranas de plaquetas, concretamente un aumento en el porcentaje de SFA de cadena larga (C16:0 y C18:0), que justifica la menor relación PUFA/SFA encontrada en animales hiperlipémicos (Badimon, et al., 1999).

Los posibles mecanismos implicados en el desarrollo de aterosclerosis experimental en conejos alimentados con colesterol, incluyen entre otros, una reestructuración de las membranas celulares enriquecidas en colesterol, modificándose los canales de calcio. Esto demuestra una adaptación de las mismas al colesterol de la dieta (Nayler, 1999).

Los cambios en el contenido de colesterol y ácidos grasos de la dieta son asociados con alteraciones en los constituyentes de fosfatidilcolina (FC) y fosfatidiletanolamina (FE) de membrana del borde en cepillo de enterocito de rata (Keelan, et al., 1994). Por otra parte, se han obtenido resultados de un estudio efectuado en ratas jóvenes y de edad avanzada, que ponen de manifiesto que la ingesta elevada de colesterol puede promover cambios en la membrana del borde en cepillo, relacionados con la edad (Tokura, et al., 1999).

Un estudio realizado en ratas alimentadas con un 10 % de grasa, como aceite de oliva (MUFA) o de prímula (PUFA n-6) y con colesterol añadido (1%), muestran un aumento en el contenido de este componente alimentario en fosfatidilcolina (FC), elevándose la relación colesterol/FL, en membranas de microsomas hepáticos, respecto de los grupos no suplementados con colesterol (Muriana, et al., 1992), lo que indica que las membranas microsomales también se adaptan al colesterol de la dieta.

#### ***4.3.3.-ADAPTACIÓN DE LAS MEMBRANAS AL TIPO DE GRASA DE LA DIETA***

Como bien postularon Clandinin, et al. (1983), tanto la estructura como la función de las membranas celulares pueden estar moduladas por el tipo de grasa ingerida. Este fenómeno de adaptación de las mismas al perfil de ácidos grasos de la dieta ha sido demostrado por numerosos autores, a través de estudios en humanos y con distintas especies animales. No obstante, la mayoría de datos disponibles son de membranas eritrocitarias, plaquetarias y de enterocito, así como endomembranas de orgánulos hepáticos, siendo prácticamente inexistentes los estudios realizados en membranas de células pancreáticas.

El empleo de dietas con diferente composición en ácidos grasos sobre el contenido de fosfolípidos de mitocondria y microsomas de hígado, corazón y cerebro de rata, muestra que cada uno de los órganos posee su propia composición peculiar en ácidos grasos, resultando el cerebro el más resistente, pero esta composición puede ser profundamente influenciada por la dieta, aunque en distinto grado para los diferentes orgánulos. Los cambios observados en esta especie son bastante rápidos, comenzando generalmente tras un máximo de tres semanas de tratamiento. Ahora bien, no existe un paralelismo estricto entre la composición de ácidos grasos



de las dietas y los cambios observados en los orgánulos, y probablemente esté influenciado (como parece ocurrir también en respuesta a la cantidad de grasa alimentaria) por la competencia metabólica entre los ácidos oleico, linoleico y linolénico. Otros ácidos grasos inusuales, tales como erúcido, *trans*-oleico y *trans*-linoleico pueden asimismo incorporarse dentro de las membranas celulares de estos orgánulos (Tahin, et al., 1981).

La membrana de eritrocito, ampliamente estudiada, parece ser la que mejor y más claramente muestra la capacidad adaptativa al tipo de grasa de la dieta. Así, se ha observado que la suplementación con AA (20:4<sub>n-6</sub>) y DHA (22:6<sub>n-3</sub>) determina la concentración de ácidos grasos poliinsaturados de las series n-6 y n-3, respectivamente, en las membranas eritrocitarias de ratas recién nacidas, alimentadas con dietas que difieren en su contenido en dichos ácidos grasos (Suarez, et al., 1996).

Escudero, et al. (1998) observan niveles mayores de MUFA en membranas eritrocitarias de ratas alimentadas con aceite de oliva, de los ácidos linoleico y araquidónico en el grupo que ingiere aceite de girasol y de PUFA n-3 en animales alimentados con aceite de pescado. Los menores niveles de ácido araquidónico se encuentran en animales del grupo pescado, observándose valores mínimos de PUFA n-3 en el grupo que ingiere girasol. Resultados similares son obtenidos por Menchaca, et al. (1998).

Los efectos de la sustitución de aceite de coco en un 50-100% por distintos aceites, cuyos ácidos grasos varían en su longitud de cadena, posición y número de dobles enlaces, se reflejan en la composición de membranas de eritrocitos de rata, con una concentración menor de SFA y mayor de MUFA en las membranas del grupo alimentado con aceite de oliva (Kirchgessner, et al., 1994).

También existen trabajos que ponen de manifiesto la adaptación de las membranas plasmáticas y endomembranas de músculo esquelético al tipo de grasa ingerida. Así, la ingesta de dietas que contienen un 10% de grasa procedente de aceite de pescado, de girasol o manteca de cerdo, durante un periodo experimental de 40 días, altera la composición en ácidos grasos de fosfolípidos, en sarcolema de conejos recién nacidos (Giillis, et al., 1992). Por otro lado, Quiles, et al. (1999) observan modificaciones en el perfil lipídico de la membrana mitocondrial de

músculo esquelético de ratas alimentadas con un 8% de aceite de oliva o girasol, sometidas a ejercicio físico durante un periodo de ocho semanas.

El hígado es un órgano cuyas membranas celulares presentan una gran capacidad adaptativa a la calidad de grasa de la dieta. La administración de cuatro dietas sintéticas, diferentes en cuanto al tipo de grasa empleada (aceites de pescado, coco, maíz o mantequilla) y suplementadas todas con un 10% de aceite de maíz, con objeto de prevenir deficiencias en ácidos grasos esenciales, provocan diferencias significativas en cuanto a la composición de ácidos grasos saturados, poliinsaturados y monoinsaturados, así como en la relación colesterol/fosfolípidos, en membranas de hepatocito de rata, tras un periodo experimental de cinco semanas. Estos resultados soportan la hipótesis de que los lípidos de la dieta pueden modificar tanto la composición química como la organización lateral, y con ella, la fluidez de dichas membranas (Clamp, et al., 1997).

La incorporación de oleico, linoleico o linolénico, procedentes de la dieta, en fosfolípidos de membrana hepática de pollo resulta muy eficientemente durante la primera semana de vida de estos animales, aumentando la insaturación de dicha membrana con las distintas dietas en el orden linolénico>linoleico>oleico (Fuhrmann and Sallmann, 1996).

Los datos disponibles acerca del comportamiento de las membranas cerebrales no son concluyentes. Unos estudios indican ausencia de adaptación, mientras otros demuestran la capacidad adaptativa de la membrana de cerebro a la calidad de grasa de la dieta.

La ingesta de una dieta basal, suplementada con un 10% de grasa procedente de aceite de oliva, girasol o coco, no modifica el contenido de ácidos grasos saturados ni monoinsaturados en membranas plasmáticas de cerebro de rata, ya que los ácidos grasos poliinsaturados más abundantes son el araquidónico (20:4 n-6) y el docosaheptaenoico (22:6 n-3) con cualquiera de los aceites. Por tanto, no se muestra efecto alguno de la dieta sobre la composición lipídica de dichas membranas, después de la administración a corto plazo de estos lípidos (Girón, et al., 1995). Sin embargo, Clandinin, et al. (1983) muestran, en estudios previos, que la dieta altera el perfil de fosfolípidos observado en membrana sinaptosomal de cerebro de rata.

La ingesta de aceite de soja (rico en PUFA n-6) o de sebo de buey (alto en SFA) afecta a la composición en ácidos grasos de membrana de neurona y retina, en ratones jóvenes alimentados durante ocho semanas, aunque no se observan cambios en el índice de insaturación, ni en la relación n-6/n-3. Sin embargo, cuando los ratones son alimentados con cualquiera de las dos dietas a lo largo de toda su vida, se detectan menos diferencias en la composición de ácidos grasos de fosfolípidos, sugiriendo que el efecto de la dieta es mitigado por la edad (Mc Gee, et al., 1994).

La membrana del borde en cepillo muestra asimismo adaptación a la calidad de la grasa de la dieta en distintas especies (Stenson, et al., 1989; Keelan, et al., 1990; Daveloose, et al., 1993; Muriana, et al., 1993; Houpe, et al., 1997) de modo que, los animales alimentados con aceite de pescado manifiestan mayor porcentaje de PUFA (n-3), y menores de MUFA y PUFA (n-6) de la misma que las ratas que ingieren mantequilla en su dieta (Brasitus, et al., 1989).

Los análisis de composición de las membranas plasmáticas de la mucosa intestinal de ratas, alimentadas con dietas que difieren en la composición de sus ácidos grasos, establecen una alteración en la composición lipídica estructural de las mismas (Clandinin, et al., 1983). Kit, et al. (1999) observan en humanos una influencia indirecta de los cambios en la grasa de la dieta sobre la composición de ácidos grasos de membrana intestinal.

Estudios realizados por Wang, et al. (1996) con ratas neonatas, alimentadas con distintas fuentes grasas, demuestran que, tanto los triglicéridos de cadena media (TCM) como los de cadena larga afectan rápidamente a la composición de ácidos grasos de la membrana del borde en cepillo. No obstante, los cambios en las actividades hidrolasas, asociados con cambios en la composición lipídica de membranas, son pasajeros, puesto que las modificaciones observadas a corto plazo (40 horas) en dichas actividades enzimáticas remiten al final del periodo experimental (33 días).

En cerdos alimentados mediante nutrición parenteral (TCM) durante tres semanas también se han encontrado diferencias en cuanto a la composición de ácidos grasos de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina de las membranas que constituyen las células del borde en cepillo intestinal, así como de la membrana microsomal del enterocito. Estos cambios se

manifiestan distintos según el segmento de intestino considerado, dependiendo también del tipo de membrana: yeyuno e íleon presentan mecanismos de control distintos para modificar sus lípidos de membrana en respuesta a la nutrición parenteral. Se ha puesto de manifiesto una modificación postmicrosomal de los lípidos entre ambas membranas (van Aerde, et al., 1997). No obstante, aún queda por establecer si el contenido lipídico de las membranas de otros órganos, entre ellos el páncreas, y, en consecuencia su función, son modificados por la composición de lípidos infundidos vía parenteral.

### **Adaptación de las membranas a los SFA de la dieta**

La ingesta de ácidos grasos saturados modifica tanto la composición como el grado de insaturación en las membranas celulares. Así, se observan cambios rápidos en las relaciones SFA/UFA y SFA/PUFA, en membranas mitocondriales hepáticas de pollos alimentados con un 20% de aceite de coco durante 14 días. La mayoría de los parámetros mitocondriales medidos tienden a recuperar los valores control tras 5-14 días de suspender el aporte de las citadas dietas (Gil-Villarino, et al., 1997).

En ratones alimentados con este mismo tipo de grasa, los fosfolípidos de las membranas hepáticas se muestran enriquecidos en SFA, pero también en MUFA, posiblemente para mantener la fluidez de dichas membranas (Burns, et al., 1983). Resultados similares obtienen Awad and Chattopadhyay (1983) en membranas de mucosa de colon, de ratones alimentados con dietas altas en grasa saturada y oleico, frente al grupo de animales que ingieren aceite de cártamo (rico en PUFA). La composición en ácidos grasos de fosfatidilcolina muestra alteraciones similares en membrana de sarcolema perteneciente a músculo cardíaco de rata, con aumento en el contenido de MUFA y disminución en los niveles de PUFA, como resultado de la ingesta de coco en la dieta (Awad, A.B. and Chattopadhyay, 1983). Dubois, et al. (1992) observan una disminución significativa del nivel de ácidos grasos no esterificados en membrana cardíaca de ratas alimentadas con un 8% de aceite de coco en la dieta.

La adición de cantidades elevadas de aceite de palma a la dieta de corderos en periodo de crecimiento causa cambios en la deposición de ácidos grasos y en el metabolismo del

colesterol, con un incremento en los SFA totales de membranas de tejido adiposo, siendo el ácido palmítico el responsable de la mayor parte de dicho incremento (Solomon, et al., 1992).

La composición de membranas de glóbulos grasos lácteos, segregados por vacas en estado de lactancia, los cuales derivan directamente de la membrana plasmática de células epiteliales de la glándula mamaria, reflejan la composición de los ácidos grasos ingeridos a través de la dieta. Así, el ácido palmítico de la dieta incrementa su concentración en las citadas membranas, poniendo de manifiesto una adaptación de las mismas a los ácidos grasos saturados de la dieta (Palmquist and Schanbacher, 1991).

### **Adaptación de las membranas a los MUFA de la dieta**

La mayoría de estudios existentes acerca de la capacidad adaptativa de las membranas celulares a los ácidos grasos monoinsaturados de la dieta se han realizado en eritrocito. La composición en ácidos grasos de las membranas de células sanguíneas y plaquetarias se ha venido empleando como índice de la composición en ácidos grasos de la dieta.

En sujetos sanos, el aporte de aceite de oliva en la dieta incrementa la concentración de MUFA y disminuye el contenido total de SFA, en fosfolípidos de membrana, tanto de plaquetas como de eritrocito, respecto de una dieta basal. El ácido palmítico (C16:0) disminuye significativamente transcurridos 42 días después de la ingesta, en ambos tipos de membranas. En plaquetas se observa además un incremento del 29% en oleico (C18:1 n-9), viéndose reducidos marcadamente los niveles de araquidónico (AA) (C20:4 n-6) (Vicario, et al., 1998).

La ingesta de aceite de oliva rico en ácido oleico origina cambios en la composición de ácidos grasos de la membrana eritrocitaria de mujeres hipertensas, respecto del grupo que ingiere una dieta basal, de manera que se incrementan los niveles de esteárico (13.6%), oleico (7.2%), araquidónico (12.9%), docosapentaenoico (88.0%) y docosahexaenoico (21.2%), descendiendo la proporción de mirístico (82.2%), linoleico (21.8%) y araquídico (35.7%), PUFA totales (7.2%), PUFA n-3 (22.2%) y relación PUFA/SFA (9.3%). La ingesta de una variedad de aceite de girasol, rico en ácido oleico, incrementa los valores de ácido eicosaenoico (33.3%), oleico (8.6%), araquidónico (6.2%) y docosapentaenoico (56.0%) de manera significativa, respecto de la dieta control, mientras el ácido linoleico disminuye en un 21.8%.

Los niveles de MUFA totales aumentan en un 7.8%, descendiendo sin embargo los de PUFA totales (5.8%), PUFA n-6 (6.5%) y la relación PUFA/SFA (6.5%), reflejando la adaptación al tipo de grasa de la dieta (Ruiz-Gutierrez, et al., 1997). Un patrón adaptativo similar para los distintos índices es encontrado en membrana de eritrocito de mini-cerdos alimentados durante 12 meses con un 9% de grasa procedente de aceite de oliva (Seiquer, et al., 1996).

En membranas de glóbulos rojos sanguíneos, de sujetos alimentados con productos de origen animal (derivados lácteos de cabra), se observan niveles superiores de ácidos grasos de cadena corta, al ser comparados con el grupo alimentado con aceite de oliva, aunque el contenido de colesterol se muestra similar en cualquiera de las membranas estudiadas (Berra, et al., 1997).

Se ha observado una modificación en la composición de ácidos grasos de membranas mitocondriales cardiacas, en ratas alimentadas con un 15% de grasa procedente de distintas fuentes (manteca de cerdo, aceite de maíz, de soja parcialmente hidrogenado o de girasol), todas ellas ricas en oleico, mostrando la adaptación de las mismas a este ácido graso monoinsaturado (Royce and Holmes, 1984). Asimismo, en conejos alimentados con dietas altas en ácido oleico, se observan valores elevados de MUFA en dicho tipo de membranas (Ochoa, et al., 1999).

Ogawa, et al. (1988) demuestran un efecto adaptativo similar en la composición de ácidos grasos libres de la membrana mitocondrial de cerebro de rata, tras la ingesta de ácido oleico, indicando en este caso la adaptación de la membrana cerebral al tipo de grasa de la dieta. En esta especie, las membranas pulmonares disminuyen la relación fosfatidilcolina/lisofosfatidilcolina, cuando se aporta este ácido graso en la dieta (Casals, et al., 1990). Neelands and Clandinin (1983) indican también aumentos de MUFA en las membranas microsomales hepáticas, en estudios realizados asimismo en ratas.

### **Adaptación de las membranas a los PUFA de la dieta**

Los aceites de maíz (deficiente en PUFA n-3), hígado de bacalao (deficiente en PUFA n-6), palma parcialmente hidrogenado (deficiente en PUFA totales) o mezcla de aceite de colza

y de cacahuete (grupo control, sin deficiencias en PUFA) ocasionan distintos efectos sobre la composición de ácidos grasos de membrana cerebral de ratas alimentadas con un 5% de grasa en sus dietas. La deficiencia en PUFA totales manifiesta valores inferiores de colesterol y fosfolípidos, mientras el grupo deficiente en PUFA n-6 muestra niveles superiores de estos lípidos, al compararlos con el grupo control. Fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina son mutuamente sustituidas en animales alimentados con dietas deficientes en PUFA n-3 y PUFA n-6, constituyendo ambos tipos de fosfolípidos alrededor de un 77% de los fosfolípidos totales de membrana. Así, la composición en ácidos grasos de fosfolípidos de membrana de cerebro se muestra significativamente modificada por las dietas estudiadas. A la luz de éstos y otros resultados, anteriormente expuestos, a pesar de que el cerebro se caracteriza como un órgano altamente protegido, su composición en ácidos grasos puede ser extensamente modulada por los PUFA de la dieta (Angulo-Guerrero and Oliart, 1998).

A nivel intestinal también se ha observado cómo la grasa poliinsaturada de la dieta altera la composición lipídica de la membrana en ratas, de manera que la ingesta de una relación elevada de PUFA/SFA incrementa el contenido en PUFA de fosfolípidos de células de mucosa. Dicho incremento se acompaña de un descenso en el contenido de MUFA de dichas células, mientras el contenido de SFA no se ve afectado por la dieta (Turini, et al., 1991). Clandinin, et al. (1983) observan asimismo en rata que la ingesta de altos niveles de PUFA/SFA durante 7 días modifica la composición de ácidos grasos de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, esfingomielina y monoglucosilceramida en este tipo de membranas.

#### ***Adaptación de las membranas a los PUFA n-3 de la dieta***

Los aceites de pescado son ricos en PUFA n-3 y en ácidos eicosapentaenoico (20:5 n-3) y docosahexaenoico (22:6 n-3). Su consumo conlleva la sustitución de ácido araquidónico por eicosapentaenoico en las membranas celulares. Este cambio a nivel celular altera positivamente el balance de eicosaenoides derivados del ácido araquidónico (n-6), como prostaglandina E<sub>2</sub>, que son proinflamatorios y regulan la función de las células del sistema inmune (Calder, 1998).

Así pues, la ingesta de dietas a base de pescado, aceite de pescado y aceite rico en DHA incrementa los niveles de PUFA (n-3) y disminuye los de PUFA (n-6) en las membranas

plasmáticas de plaquetas y eritrocitos humanos, observándose una correlación positiva entre el total de PUFA n-3, DHA y EPA ingeridos y el incremento en el contenido de estos ácidos grasos en las fracciones lipídicas totales analizadas; el DHA es preferentemente incorporado en fosfolípidos (FL) y triglicéridos (TG), mientras EPA lo hace preferentemente en FL y ésteres de colesterol (EC) (Vidgren, et al., 1997).

El empleo de aceite de lino como fuente vegetal de PUFA n-3 ( $\alpha$ -linolénico) revela una influencia pronunciada del mismo sobre los lípidos de membrana eritrocitaria de pacientes con cardiopatía isquémica, hiperlipemia y presión sanguínea elevada, observándose un incremento en los niveles de linolénico, EPA y DHA, frente a una reducción en el nivel de ácido linoleico (Rozanova, et al., 1997). Sin embargo, Lund, et al. (1999) indican que los PUFA n-3 procedentes de aceite de pescado influyen en la composición de membranas de eritrocito humano (a niveles relativamente bajos de suplementación), debido a un mecanismo que no implica necesariamente un incremento en el nivel de EPA o de DHA en estas membranas.

En membranas de adipocito de rata, la ingesta de un 22% grasa a base de aceite de pescado (PUFA n-3) provoca un aumento significativo de glicerofosfolípidos, de la relación fosfatidilcolina/esfingomielina y en la proporción de especies moleculares con ácidos grasos poliinsaturados, sin ocasionar modificaciones en el contenido de fosfolípidos o de colesterol total (Parrish, et al., 1997).

#### ***Adaptación de las membranas a los PUFA n-6 de la dieta***

Diversos estudios ponen de manifiesto que la proporción de ácido linoleico (PUFA n-6) presente en las membranas se correlaciona con la cantidad de ácido linoleico, así como con la relación PUFA/SFA presentes en la dieta (Charnock, et al., 1984; Gibson, et al., 1984; Glatz, et al., 1989).

La ingesta de un 20% de grasa como aceite de girasol (PUFA n-6) provoca un aumento significativo del contenido en PUFA de fosfolípidos y del contenido en ácidos grasos de cadena larga de esfingolípidos, en la membrana plasmática de adipocitos de ratas, respecto de una dieta



a base de manteca de cerdo como fuente grasa, lo que indica una adaptación de estas membranas celulares a los PUFA n-6 de la dieta (Zsigmond, et al., 1990).

El suplemento de 5 g de aceite de soja/100 g de dieta incrementa la concentración de ácido linoleico (n-6) y de 18:1 *trans* en membranas plasmáticas de adipocitos de oveja. Paralelamente, descienden las concentraciones de los ácidos mirístico (14:0), araquidónico (20:4 n-6) y heptadecanoico (17:0) (Jenkis, et al., 1994).

En la oca, la sobreingesta de maíz (rico en PUFA n-6), provoca un hígado graso, con un aumento en la relación colesterol/fosfolípidos de membrana. Los cambios en la composición de ácidos grasos de dichas membranas reflejan un aumento superior al doble en el porcentaje de ácido oleico y en el contenido en los ácidos láurico, palmítico y palmitoleico (aunque menor). De forma paralela, se observa un descenso en la proporción de ácido esteárico, así como un aumento en la relación SFA/PUFA, que se relaciona con un descenso significativo en el contenido de PUFA. También se observa un defecto en la incorporación de ácido linoleico y PUFA derivados, a pesar de la alta proporción de estos ácidos grasos esenciales en la dieta. Solamente el porcentaje en ácido eicosatrienoico (20:3 n-9) muestra un aumento por la esteatosis hepática. La sobrealimentación con maíz parece inducir, por tanto, una competencia entre los ácidos grasos sintetizados *de novo* y los incorporados a través de la dieta, en estas membranas, lo que origina una acumulación de MUFA endógenos y de sus derivados en las mismas. Se demuestra con ello una prevalancia de la lipogénesis hepática sobre la ingesta lipídica para modular la composición de ácidos grasos en estas membranas (Cazeils, et al., 1999).

### **Adaptación de las membranas a los ácidos grasos *trans***

La hidrogenación industrial de aceites con ácidos grasos poliinsaturados es un proceso empleado para la producción de margarinas y otras grasas comestibles, que conlleva la formación de isómeros *trans* de esos ácidos grasos, los cuales, una vez ingeridos a través de la dieta, son incorporados en determinadas membranas celulares, ocasionando cambios en la composición lipídica de las mismas. Dicha incorporación es cuantitativa y depende del grado de hidrogenación de dichos aceites, de modo que se ha podido observar una relación directa entre

aumentos de MUFA y descensos de PUFA tisulares y el grado de hidrogenación de la grasa de la dieta. Así, los tejidos de animales alimentados con aceite de pescado parcialmente hidrogenado muestran cantidades significativas de ácidos grasos *trans* (Morgado, et al., 1999)

Resultados previos, obtenidos por Schrock and Connor (1975), en conejos alimentados con ácidos grasos monoinsaturados en posición *cis* o *trans* (oleico o elaídico), indican una incorporación de los mismos en fosfolípidos de tejido adiposo. Esto sugiere que los ácidos grasos *trans* de la dieta, contenidos en margarinas, shortenings y aceites hidrogenados, son fácilmente incorporados en el interior de los lípidos del organismo, incluyendo las estructuras membranosas.

Sin embargo, la ingesta de ácido elaídico (C18:1<sub>n-9</sub> *trans*) incrementa la incorporación del mismo en membranas de músculo cardíaco de rata, elevando el contenido en colesterol, pero sin afectar el perfil de ácidos grasos contenidos en las mismas (Awad and Chattopadhyay, 1983).

Un estudio realizado en cerdos, para observar los efectos de grasas parcialmente hidrogenadas, sometidas o no a tratamiento químico (calor), sobre el perfil de ácidos grasos de membrana de mucosa ileal y de tejido subcutáneo, sugiere: 1) un menor efecto de los ácidos grasos *trans* sobre la regulación de la grasa intraluminal, al ser comparada con ácidos grasos poliinsaturados *cis* y saturados y 2) mayor incorporación de ácidos grasos *trans* en membranas, tras la ingesta de grasas tratadas químicamente, con repercusiones en el desarrollo de lesiones epiteliales en íleon, por ingestión de las mismas (Buhner, et al., 1995).

#### **4.4.-MODIFICACIONES DE LA FUNCIONALIDAD DE LAS MEMBRANAS CELULARES POR CAMBIOS EN SU COMPOSICIÓN LIPÍDICA**

Los lípidos no sólo se presentan como determinantes de la estructura de membrana, sino también como potentes moduladores de las funciones celulares asociadas a la misma, actuando como ligandos de receptores de superficie celular, segundos mensajeros, etc. Algunas de estas funciones implican a los *lípidos complejos*, como es el caso de los gangliósidos, que provocan la

alteración de receptores. Otras ocasionan división de lípidos de membrana hasta sus productos, tales como (a) *ácidos grasos insaturados*, que son convertidos a prostaciclina, prostaglandinas, tromboxanos y otros componentes; (b) *diacilglicéridos*, que activan la proteína-kinasa-C (PKC); (c) *inositoles-fosfato*, que estimulan la liberación de calcio desde los almacenes intracelulares o (d) *lisoalkilfosfatidilcolina*, que es convertida a factor activador de plaquetas. Constantemente están apareciendo nuevos papeles para los lípidos de membrana, como la inhibición de PKC por esfingomiosina o la liberación de proteínas ligadas a fosfatidilinositol en respuesta a hormonas. Según Thomson (1982), los cambios en la composición de los lípidos de la dieta ejercen un efecto complejo sobre la función de la membrana (concretamente la membrana intestinal) y pueden afectar a transportes tanto activos como pasivos a través de la misma. Estas modificaciones a través de la dieta pueden tener importantes implicaciones para la función celular normal y para la enfermedad (Merrill 1989).

#### **4.4.1.-EFECTO DE LA CANTIDAD DE GRASA DE LA DIETA**

Algunos de los cambios funcionales que ocurren en las membranas, como consecuencia de los efectos de la grasa de la dieta sobre la composición lipídica de las mismas, se traducen, entre otras, en modificaciones de actividades enzimáticas específicas, ligadas a membrana e implicadas en procesos relacionados con el metabolismo celular.

La ingesta de dietas ricas en grasa disminuye la absorción de colesterol *in vivo* y la captación del mismo *in vitro*, a través de la membrana del borde en cepillo (MBC) (Reynier, et al., 1988). Takase (1994) indica que la ingesta de dietas altas en grasa (70%) puede provocar cambios, a nivel de membrana, en la estructura de las microvellosidades de células epiteliales del intestino delgado de rata, seguidos de alteraciones en el área de la superficie digestiva/absortiva de dichas células.

En ratas alimentadas con dietas libres de grasa, Ammouche, et al. (1994) demuestran un aumento en la actividad específica de la nucleósido trifosfatasa (NTPasa), enzima de la membrana nuclear implicada en la función del núcleo.

La ingesta de una dieta alta en grasa durante 28 días provoca niveles elevados de la proteína de unión a acil-CoA (una enzima de membrana presente en distintos tejidos y directamente implicada en el metabolismo lipídico) en hígado, corazón y riñón. Se ha observado que una fragmentos de acil-CoA, y estimula la síntesis de ácidos grasos de cadena media por la ácido-graso-sintasa. El ayuno desciende dichos niveles tan sólo a nivel hepático (Bhuiyan, et al., 1995).

Medidas de la actividad UDP-glucuronosiltransferasa, una enzima ligada a la membrana de microsomas hepáticos, muestran una reducción de hasta el 30% de la misma en ratas alimentadas con una dieta libre de grasa (Dannenberg and Zakim, 1992).

Podolín, et al. (1998) sugieren que, los cambios ocasionados en la composición de ácidos grasos y en la fluidez de la membrana, en ratas que ingieren dietas ricas en sacarosa o en almidón y bajas en grasa, durante 1 o 5 semanas, pueden contribuir al empeoramiento del metabolismo hepático de la glucosa (y al consiguiente desarrollo de resistencia a insulina). Cabe recordar que una dieta alta en grasa y azúcar refinado, similar a la típica dieta americana, causa resistencia a insulina, cuando es comparada con una dieta baja en grasa y con carbohidratos complejos (Barnard and Youngren, 1992). Kahn and Pedersen (1993) observan el desarrollo de obesidad inducida por la dieta en ratas, cuando ingieren cantidades elevadas de grasa; este hecho se asocia a la supresión pretraduccional de la expresión de GLUT4, principal transportador de glucosa regulable por insulina, en membrana de músculo esquelético.

Kummerow (1983) describe que el flujo de calcio y otros nutrientes al interior de las células parece ser una de las propiedades más afectadas por los cambios en la composición lipídica de las membranas y puede ser importante en el desarrollo de la aterosclerosis. En segmentos de aorta de ratas alimentadas con dietas altas en grasa durante ocho semanas se observa un descenso en la densidad de movimiento de calcio, así como una inactivación de canales dependientes de voltaje, mientras aumenta el contenido de ácido araquidónico en fosfolípidos, lo que indica que se producen modificaciones a nivel de membrana vascular como consecuencia de su adaptación a un incremento en el contenido de grasa en la dieta (Wilde, et al., 2000)

No hemos encontrado estudios acerca del efecto que la cantidad de grasa procedente de la dieta puede ejercer sobre la funcionalidad de las membranas celulares pancreáticas. En este sentido, Shinkai, et al. (1997) han puesto de manifiesto que distintos fosfolípidos (esfingosina o ceramida) inhiben la secreción de amilasa estimulada por carbacol, en acinos pancreáticos de rata, de manera dosis-dependiente, al actuar como segundos mensajeros, movilizando al  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, lo que sugiere que estas membranas se adaptan a cambios lipídicos con modificaciones en la secreción pancreática exocrina. Por otra parte, existe un estudio que relaciona el triptófano con la función secretora exocrina, en acinos pancreáticos de ratas. Este aminoácido inhibe la secreción de amilasa estimulada por CCK-8 y dicho efecto es debido, en parte, al aumento de la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  al interior de la célula, lo que sugiere la existencia de mecanismos moduladores de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  a nivel de membrana, siendo este nutriente el responsable de los mismos (Okutani, et al., 1996). Según esto, podemos pensar que los lípidos de la dieta, puedan ejercer un efecto similar sobre las membranas acinares, que explicaría los cambios en la secreción pancreática provocados como consecuencia de la ingesta de los mismos.

#### ***4.4.2.-EFECTO DEL COLESTEROL DE LA DIETA***

Se ha progresado bastante en el conocimiento del papel que juega el colesterol a nivel de membrana celular. Como se ha mencionado, su contenido en las mismas está inversamente relacionado con el grado de fluidez. La adicción de colesterol a la dieta administrada a ratas durante 20 días oblitera la asimetría natural de la membrana hepática, con descensos en la fluidez y modificaciones paralelas en la actividad esfingomiosina-sintasa, negativamente correlacionada con el contenido en colesterol (Nikolova-Karakashiau, et al., 1992).

Gillies and Robinson (1988) observan lesiones visibles en aortas de conejos que ingieren colesterol en la dieta; después de un periodo de diez semanas, los animales muestran un desarrollo extensivo de las lesiones. Con estos resultados se apoya la hipótesis de que la fluidez de la membrana, negativamente correlacionada con su contenido en colesterol, se ve disminuida en la aterosclerosis.

Determinaciones realizadas en membranas celulares de aorta de conejos con hiperlipemia hereditaria, a través de un anticuerpo monoclonal recientemente descrito (ASH1a/256C), demuestran un contenido de hasta dos veces menor de fosfolípidos y 50 veces mayor de colesterol en las mismas, respecto de las observadas en membranas de animales sanos (Mori, et al., 1999).

El colesterol regula las bombas iónicas, las cuales en algunos casos muestran una dependencia absoluta del mismo para su actividad, crucial en funciones esenciales para la supervivencia celular (Yeagle, 1989). Recientemente, Ademoglu, et al. (2000) han observado una disminución significativa de las actividades ATPasa Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> y ATPasa Ca<sup>2+</sup> de membranas de eritrocito, hepatocito y córtex renal de rata, tras la ingesta de una dieta rica en colesterol. Esto nos lleva a pensar que también exista la posibilidad de regulación de determinadas enzimas ligadas a la membrana acinar por el colesterol de la dieta.

Estudios en conejos con aterosclerosis experimental muestran un incremento en la relación colesterol/fosfolípidos y una disminución en la actividad de ATPasa Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>, en membrana de eritrocito, asociados ambos con un incremento significativo del nivel de colesterol plasmático, en animales con manchas lipídicas sencillas en la aorta. En homogenados de aorta, la actividad ATPasa se correlaciona con la de la membrana eritrocitaria. Los datos pueden apoyar la hipótesis acerca de la implicación de alteraciones en las células del músculo liso y en la actividad enzimática de membrana en la aterosclerosis (Torkhovskaia, et al., 1980). Asimismo, se ha encontrado que un aumento del contenido en colesterol de membranas de eritrocito, parece disminuir el grado de difusión de oxígeno transmembrana en conejos hipercolesterolémicos (Menchaca, et al., 1998).

La adicción de colesterol (1%) a dietas que contienen un 10% de aceite de oliva o de prímula, ingeridas durante 6 semanas, aumenta la actividad delta-9-desaturasa, descendiendo las de 6 y 5 delta desaturasa, lo que implica una acción reguladora del colesterol sobre dichas enzimas ligadas a membrana intestinal de rata (Muriana, et al., 1992).

Tras el aporte de cantidades incrementadas de colesterol a la dieta de conejos hipersensibles a la hipercolesterolemia se produce una disminución del número de receptores apoE de membrana hepatocitaria en un 20% respecto a animales hiposensibles, con un incremento paralelo en las concentraciones de colesterol en dicha membrana (Meijer, et al., 1992).

También han sido observadas modificaciones funcionales en membranas de vesícula biliar, tras la administración de una dieta alta en colesterol. La contracción vesicular en respuesta a CCK-8 disminuye en un 52% en perros de manera paralela a un incremento del 90% en el contenido en colesterol y en la relación molar C/FL de membrana plasmática. Se encuentran cambios similares tras la incubación de células de vesículas normales con liposomas ricos en colesterol durante 2 horas. Estas modificaciones inducidas tanto *in vivo* como *in vitro* revierten tras la incubación de células de la vesícula con liposomas libres de colesterol durante 2 a 6 horas, de lo que se deduce que las membranas de la vesícula biliar pueden incorporar un exceso de colesterol cuando son expuestas a un ambiente rico en colesterol, empeorando la contracción vesicular, pero que estos cambios parecen ser reversibles (Yu, et al., 1996).

Un estudio llevado a cabo en cultivos celulares de músculo liso de aorta de conejo muestra gran sensibilidad de estas membranas al enriquecimiento en colesterol, con el consiguiente aumento en los niveles de  $Ca^{2+}$  citosólico en estas células, asociado a un descenso en la fluidez de membrana, lo que implica mayor movimiento transmembrana de  $Ca^{2+}$  (Gleason, et al., 1991). Según estos datos, pensamos que a nivel pancreático puede existir un mecanismo en el que también esté implicado el colesterol, en relación con la regulación de la secreción exocrina.

En ratas, tras la adicción de colesterol en la dieta, se observan resultados similares en este mismo tipo de células anteriormente citadas, con descensos en la fluidez a temperaturas comprendidas entre 15-40°C, acompañados de incrementos del 30 y 90% en la  $[Ca^{2+}]_i$  (intracelular) basal y máxima, respectivamente. Se muestra así, que el colesterol puede estar implicado en el desarrollo de enfermedades vasculares, vía modulación del incremento en la  $[Ca^{2+}]_i$ . Sin embargo, la estimulación del intercambio  $Na^+/K^+$  no se ve afectada en estas células por el enriquecimiento en colesterol (Sachinidis, et al., 1997).

La funcionalidad celular del sistema reproductor también parece verse influenciada por el colesterol presente en las membranas. Así, se ha observado un descenso en la cinética de reacción del acrosoma de espermatozoides, en conejos con hipercolesterolemia experimental, al parecer, a consecuencia de un incremento en el nivel de colesterol de las membranas celulares del citado sistema, o bien por una diferencia en los dominios del mismo, que pueden ocasionar cambios en la rigidez de membrana, modificando la capacidad de fusión y, consecuentemente, la funcionalidad de dichas membranas (Díaz-Fontdevila, et al., 1992).

Como hemos descrito en el apartado referente a la cantidad de grasa, es prácticamente inexistente la información disponible acerca de la influencia que la ingesta de colesterol puede ejercer a nivel de membrana pancreática. Lo que sí parece claro es que el colesterol presente en la membrana incide en multitud de señales de transducción (Incardona and Enton, 2000), por lo que, a pesar de la escasez de estudios al respecto, cabe esperar una modulación también en las membranas acinares pancreáticas, en las cuales se desencadenan diversas señales de este tipo, responsables de la secreción pancreática exocrina. Estudios recientes han propuesto que los microdominios de colesterol-glucoesfingolípidos presentes a nivel de la membrana celular están implicados en el transporte transmembrana de proteínas ancladas a éstos y en señales de transducción vía tirosina-kinasas (Kasahara and Sanai, 1999). Schmidt, et al. (2001) han examinado recientemente el papel de estos microdominios en la salida de enzimas digestivas desde los gránulos de zimógeno, así como en la formación granular, encontrando que aquéllos son necesarios para llevar a cabo estos eventos, pues actúan como plataformas de estas proteínas secretoras, que son liberadas a través de la cara apical celular.

#### ***4.4.3.-EFECTO DEL TIPO DE GRASA DE LA DIETA***

Los cambios que se producen en la naturaleza de los ácidos grasos de membrana inducen asimismo modificaciones en diversos aspectos funcionales de la misma. Tal es el caso de las actividades de enzimas responsables de la síntesis de constituyentes de membrana, de funciones activadas por hormonas o de la expresión de actividad en el núcleo celular, esto es, a nivel genético (Clandinin, et al., 1991).



Empleando modelos animales, se puede demostrar la influencia de un control por parte de los ácidos grasos de cadena larga de la dieta sobre los principales constituyentes lipídicos de distintas membranas: membrana mitocondrial de tejido cardíaco, membrana plasmática de hígado y membrana sinaptosomal de cerebro.

Las alteraciones inducidas por la dieta sobre la composición de membranas son asociadas con cambios demostrables en la función de proteínas específicas. En este sentido, Clandinin, et al. (1985) sugireren que la grasa de la dieta modula las funciones enzimáticas *in vivo* en membrana hepática de rata, a través de cambios en el ambiente lipídico que rodea a la misma.

La composición en ácidos grasos de las membranas de músculo esquelético viene también determinada, entre otros factores, por la dieta. Diversos estudios han mostrado que la composición en ácidos grasos de los fosfolípidos de estas membranas está estrechamente relacionada con la sensibilidad a la insulina. Concretamente, un incremento en la saturación de los ácidos grasos de la membrana y una reducción de la actividad delta-5-desaturasa se han venido asociando con una resistencia a dicha hormona pancreática. No obstante, los estudios de intervención controlada de la dieta, realizados en humanos parecen mostrarse negativos (Vessby, 2000).

La ingesta de distintos aceites insaturados (oliva, girasol, prímula, lino o salmón) provoca en ratas mayor una fragilidad osmótica en la membrana de eritrocito, con un menor grado de resistencia a la hemólisis, respecto de una dieta control (rica en SFA procedentes de aceite de coco) (Kirchgessner, et al., 1994).

Peng and Rhodes (1999) indican que el tipo de lípidos ingeridos en la dieta parece modular en membranas de cerebro de rata el metabolismo de fosfolípidos y la expresión diferencial de isoenzimas de la fosfolipasa D (FLD), conocida ésta como una de las principales enzimas presentes en muchos de los nuevos fenómenos de señales.

Gillis, et al. (1992) muestran efectos distintos según el tipo de grasa (manteca de cerdo, aceite de pescado, etc) sobre la conducción y excitabilidad en músculo cardiaco de conejos, aspectos funcionales asociados a membrana.

### **Influencia de los SFA de la dieta**

Una baja ingesta de ácidos grasos saturados (SFA), en el contexto de una dieta alta en grasa, puede comprometer la biosíntesis de fosfolípidos en las membranas celulares. Además, la posición de estos ácidos grasos en la molécula de triglicéridos puede ocasionar una serie de consecuencias metabólicas en mamíferos jóvenes (Beare-Rogers, 1995).

Es conocido que los SFA de la dieta, especialmente, laúrico, mirístico y palmítico, (caracterizados por su efecto hipercolesterolémico), influyen en la composición de ácidos grasos de membrana celular, afectando a la función del receptor de LDL, como ha sido mostrado en células ováricas de hamsters chinos, dotados de receptores de LDL humanos (Hannah, et al., 1995).

La unión de LDL es independiente de la fluidez, pero las correlaciones puestas de manifiesto entre la internalización de la partícula en la célula y dicha propiedad sugieren un papel de la fluidez (que a su vez, como se ha citado, es función de la composición en ácidos grasos) como factor que modula el desplazamiento del complejo receptor/LDL a través de la membrana plasmática de células ováricas, en el hamster (Berlin, et al., 1996).

Baur, et al. (1998) muestran interrelaciones entre el tipo de grasa ingerida, la composición en ácidos grasos de las membranas de células musculares y la gluco-regulación en niños jóvenes, de modo que la saturación de los ácidos grasos de dichos fosfolípidos puede jugar un papel en el consiguiente desarrollo de enfermedades asociadas con resistencia a insulina.

Según un estudio realizado por Dudley, et al. (1994) las actividades de las enzimas disacaridasas y fosfatasa alcalina se muestran mayores en cerdos alimentados con una dieta elevada en grasa saturada respecto de otra alta en ácidos grasos insaturados. Puesto que la

composición en ácidos grasos de las membranas refleja generalmente la composición de la dieta, los análisis de correlación indican que la composición en ácidos grasos de fosfolípidos, y en colesterol, de las membranas está asociada con las diferencias observadas en la actividad hidrolasa, en la membrana del borde en cepillo de mucosa yeyunal, en esta especie .

Se ha observado que la ingesta de una dieta con bajos niveles de ácidos grasos saturados (alta relación PUFA/SFA) y baja en proteína, es capaz de contrarrestar las anomalías lipídicas en pacientes con insuficiencia renal crónica. La normalización de este patrón se asocia con una mejora significativa de la composición lipídica y presumiblemente, de la actividad “funcional” de las membranas celulares con un adecuado control de la supuesta “toxicidad de la lipoproteína renal” (Loschiavo, et al., 1990).

El cultivo de islotes pancreáticos de rata en presencia de palmitato sódico suprime la liberación de insulina sensible a glucosa, paralela al descenso en el contenido de ATP, incremento en la respiración y disminución del potencial de membrana mitocondrial de los islotes. Por tanto, la exposición a ácidos grasos saturados de cadena larga induce desacoplamiento de la fosforilación oxidativa de células  $\beta$  y esto puede contribuir a una menor liberación de insulina sensible a glucosa (Carlsson, et al., 1999). Esto parece indicar que se producen cambios a nivel de endomembranas celulares del páncreas endocrino tras el enriquecimiento en SFA. No hemos encontrado, por el contrario, estudios al respecto, que muestren la influencia de estos ácidos grasos sobre el páncreas exocrino.

### **Influencia de los MUFA de la dieta**

Los valores elevados de ácidos grasos monoinsaturados y de colesterol, observados en membranas de microsomas hepáticos son similares en ratas recién nacidas y tras 5 semanas de ingesta de aceite de oliva en la dieta, lo que sugiere un mantenimiento adecuado de la funcionalidad en aquellas membranas ricas en ácidos grasos monoinsaturados (Periago, et al., 1988).

Una dieta alta en grasa origina descensos en la actividad adenilato-ciclasa hepática, enzima ligada a la membrana y estimulada por glucagón, que incrementa las concentraciones de

AMPc intracelular. Los niveles de oleico y de MUFA totales presentes en fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina, están directamente asociados con la actividad de la citada enzima, mientras el nivel de PUFA n-6 lo hace de manera inversa y, puesto que dicha composición lipídica de la membrana refleja el contenido de ácidos grasos en la dieta, se sugiere que la grasa de la dieta, y en concreto el ácido oleico, influyen en la actividad enzimática mencionada, mediante modulación de los componentes lipídicos de la membrana (Neelands and Clandinin, 1983). Estos datos sugieren la idea de una acción similar de la citada enzima a nivel de la célula acinar pancreática, por efecto de la dieta, puesto en este tipo de células también se llevan a cabo las mismas funciones sobre la liberación de AMPc intracelular y la consiguiente liberación de enzimas digestivas.

La sustitución de ácidos grasos poliinsaturados por monoinsaturados reduce la resistencia a la insulina, habiéndose demostrado una correlación significativamente positiva entre la relación oleico/linoleico de membrana de adipocito y el transporte de glucosa transmembrana, mediado por insulina, en pacientes con diabetes tipo 2. Asimismo, los MUFA restauran la vasodilatación dependiente de endotelio, sugiriendo una explicación para los beneficios antiaterogénicos de la dieta mediterránea (Ryan, et al., 2000).

Diversos estudios en humanos han revelado que la función plaquetaria puede verse afectada por modificaciones en la dieta (Renaud, et al., 1986; Burri, 1991; Turini, 1994). Como se sabe, las plaquetas juegan un papel clave en la aterogénesis, a través de su interacción con la pared vasal, y la consiguiente formación de trombos (Ross, 1986). En sujetos sanos, la ingesta de aceite de oliva incrementa la concentración de MUFA y desciende la de SFA, en fosfolípidos de membranas de plaquetas y de eritrocitos. Sin embargo, la importancia fisiológica de estos cambios no ha sido aún establecida (Vicario, et al., 1998). No obstante, estudios en membranas de plaquetas bovinas sugieren que la inhibición de la agregación plaquetaria por ácidos monoinsaturados *cis* es debida a la perturbación de la capa lipídica de las mismas (Kitagawa, et al., 1985).

El nivel de ácido araquidónico incorporado en fosfolípidos de plaquetas ha sido consistentemente asociado con la función plaquetaria (Renaud, et al., 1986; Known, et al., 1991)

y en este sentido, algunos autores (Barradas, et al., 1990; Wenxun , et al., 1990) soportan la hipótesis de que el ácido oleico (C18:1 n-9) de la dieta empeora la incorporación de araquidónico, reduciendo posteriormente la síntesis de tromboxanos proagregantes derivados. Este mecanismo puede ser similar al propuesto para los aceites de pescado.

El ácido oleico puede proteger frente a la disminución de la actividad ATP-difosfohidrolasa vascular (ATPDasa) (enzima presente en células endoteliales de aorta y en células del músculo liso, y que puede jugar un papel regulador clave en la homeostasis y reactividad de plaquetas, por convertir ATP y ADP extracelulares a AMP). Esta protección puede llevarse a cabo por un mecanismo que incluye alteraciones de la composición lipídica de membranas de células endoteliales, que influyen en las respuestas a reacciones de estrés oxidativo (Robson, et al., 1997).

El incremento en el grado de producción la línea celular HL-60 de pacientes con leucemia se correlaciona inversamente con los niveles de ácido oleico en fosfolípidos de membrana (Colome, et al., 1999).

De otra parte, los niveles más bajos de PUFA encontrados en membranas de eritrocito de mini-cerdos alimentados con dietas elevadas en aceite de oliva, respecto de los que ingieren aceite de girasol o de pescado, indican también una ventaja desde el punto de vista funcional, al estar dichos membranas menos accesibles a la peroxidación lipídica (Seiquer, et al., 1996). Asimismo, la membrana mitocondrial cardiaca de conejos con altos niveles de MUFA genera niveles bajos de peroxidación lipídica (Ochoa, et al., 1999). En humanos, las membranas de células endoteliales muestran mayor resistencia a la peroxidación cuando sus fosfolípidos están enriquecidos en ácido oleico, resultando más susceptibles con alto contenido en linoleico y, en contra de lo esperado, no así para EPA y DHA (Vossen, et al., 1995).

En la rata, la funcionalidad de la membrana mitocondrial en células de cerebro parece verse afectada por el ácido oleico de la dieta, al intervenir éste en fenómenos de fosforilación oxidativa (Ogawa, et al., 1988). El aporte de ácido oleico puede asociarse también a un metabolismo alterado de la lisofosfatidilcolina en la membrana pulmonar, al incrementar la actividad fosfolipasa A y disminuir la acilCoA: lisofosfatidilcolina-aciltransferasa, ligadas

ambas a la misma, aunque esto es discutido (Casals, et al., 1990). Sin embargo, en células cardíacas, la mitocondria preserva sus propiedades respiratorias, tras el aporte de dicho ácido graso monoinsaturado, a pesar de que sus membranas se adaptan estructuralmente al perfil de ácidos grasos de la dieta (Royce and Holmes, 1984).

Las células gliales, presentes en la retina, poseen aminopeptidasas, que se localizan en las membranas plasmáticas; éstas son generalmente Zn-metaloenzimas, que hidrolizan enlaces peptídicos cerca del extremo N-terminal de péptidos y polipéptidos. La importancia de estas enzimas se basa en su mayor papel en el metabolismo proteico y en la regulación de hormonas circulantes y de péptidos biológicamente activos. En la rata, el ácido oleico inhibe las actividades enzimáticas de Ala-, Cys-, Leu-, y Tyr-aminopeptidasas, sin modificar otras como Arg- y pGlu-aminopeptidasas. Esta modulación puede estar relacionada con la comunicación intercelular y con procesos de transporte molecular, en los cuales la función del astrocito esté implicada. Además, el ácido oleico puede modular la acción de péptidos opioides y de hormonas esteroideas en células astrogiales (Martínez Martos, et al., 1999).

No hemos encontrado trabajos que estudien la influencia de MUFA, y en concreto del ácido oleico procedente del aceite de oliva, sobre la funcionalidad de membranas acinares, determinada por la composición lipídica de las mismas.

### **Influencia de los PUFA de la dieta**

El papel de los PUFA de la dieta como reguladores de la función celular puede relacionarse con la modulación de la fluidez de membrana, puesto que esta propiedad, como se sabe, es el mayor determinante de muchas funciones asociadas a la misma, tales como la unión de receptores, la liberación y recaptación de neurotransmisores, el transporte iónico, la fosforilación de proteínas y la actividad de enzimas ligadas a la membrana (Engelhard, et al., 1976; Kaur, M., et al., 1996).

Los efectos de los ácidos grasos de las series n-6 y n-3 en la funcionalidad de la membrana son diferentes, en el contexto de niveles óptimos de éstos en la dieta (Kinsella, et al., 1990). Las diferencias potenciales en los efectos de los distintos ácidos grasos resultan de

variaciones en la longitud de cadena y en el número y posiciones de dobles enlaces (Berlin, et al., 1998).

Muriana, et al. (1992) muestran una actividad mayor de las enzimas delta 5 y 6 desaturasas, en microsomas hepáticos de rata, tras la ingesta de aceite de pescado (PUFA) que con la de aceite de oliva (MUFA). En la gamba, los PUFA de cadena larga (EPA), encontrados en membrana del borde en cepillo de células de hepatopáncreas, parecen estar relacionados con la citada actividad (Muriana, et al., 1993). Sin embargo, en cerdos alimentados con dietas deficientes en PUFA, la delta 5 desaturasa se muestra mayor que en animales del grupo control (Daveloose, et al., 1993). Stenson, et al. (1989) observan en rata incrementos en la actividad fosfatasa alcalina de membrana de enterocito, tras la ingesta de aceite de pescado.

Las membranas eritrocitarias de mini-cerdos que presentan alto porcentaje en PUFA son más accesibles a la peroxidación lipídica y el grado de peroxidación está directamente relacionado con cambios en la funcionalidad de las mismas (Seiquer, et al., 1996). Estas membranas muestran adaptación a la composición lipídica de la dieta, aunque pueden verse afectadas por mecanismos homeostáticos de las mismas, lo cual puede afectar de manera importante a distintos procesos funcionales (Seiquer, 1991).

La ingesta de una dieta alta en PUFA/SFA incrementa la unión de insulina a la membrana nuclear de hepatocito, en ratones con obesidad genética. El consumo de este tipo de dieta disminuye los niveles de ARNm para las enzimas ácido graso-sintasa, acetil-coA carboxilasa, enzima málica y piruvato-kinasa, en animales tanto obesos como normales. La expresión de ARNm para estos enzimas lipogénicos se manifiesta superior en ratones obesos y sugiere que éstos pueden ser más resistentes a un control *feed back* de la expresión génica tras la ingesta de PUFA (Clandinin, et al., 1996).

En ratas, se observa una velocidad mayor en el transporte de D-glucosa transmembrana, dependiente de Na<sup>+</sup>, tras la ingesta de aceite de pescado, respecto del grupo alimentado con mantequilla (Brasitus, et al., 1989). Keelan, et al. (1990) indican, por el contrario, una reducción de la captación de D-glucosa tras la ingesta de altos niveles de PUFA y un incremento con el

aporte de SFA. En monos, dicho transporte de glucosa se ve inhibido por los ácidos grasos no esterificados de la dieta (Ibrahim and Balasubramanian, 1993).

Los efectos de la administración de ácidos grasos esenciales (AGE), procedentes de distintos aceites de la dieta, se traducen en una alteración de la actividad superóxido-dismutasa-Mn<sup>+</sup> (SOD-Mn) en membranas de células constituyentes del músculo cardíaco de ratas, lo que indica que estas membranas se ven afectadas por la composición de ácidos grasos esenciales de la dieta, con los consiguientes efectos sobre la funcionalidad de las mismas (Phylactos, et al., 1994).

### *Influencia de los PUFA n-3*

El consumo de aceite de pescado, rico en PUFA (n-3), disminuye la proliferación de linfocitos, la citotoxicidad mediada por células T y por macrófagos, la actividad de células natural killer, la quimiotaxis de monocitos y neutrófilos, una mayor histocompatibilidad de la expresión y presentación de antígenos de clase II, la producción de citocinas y la adhesión de moléculas de expresión. En animales de laboratorio, la ingesta de este tipo de ácidos grasos reduce las respuestas inflamatorias agudas y crónicas, mejora la resistencia a endotoxina, y, en modelos de autoinmunidad, prolonga la supervivencia de órganos transplantados; también reduce la respuesta inmune mediada por células, por lo que la suplementación con este tipo de aceite puede ser clínicamente empleada en condiciones inflamatorias crónicas y agudas y a continuación de un trasplante. Los citados efectos de los PUFA (n-3) pueden ser ejercidos por modulación de señales de transducción y/o expresión génica en células inflamatorias e inmunes (Calder, 1998), en los cuales está implicado el ambiente lipídico de la membrana plasmática.

Por otra parte, las membranas ricas en PUFA n-3 ven afectados los procesos de captación y metabolismo intracelular de ácidos grasos, así como su fluidez, en hepatocitos de ratas alimentadas durante diez días con suplementos de PUFA n-3 (EPA, DHA o ambos purificados), respecto de las que ingieren aceite de maíz (PUFA n-6) (Hagve, et al., 1998).

Se han observado también modificaciones mitocondriales, causadas por aumento en los niveles de DHA mediante manipulación de la dieta, con el consiguiente descenso en el índice de



control respiratorio. Estos fenómenos han sido atribuidos a incrementos en el movimiento transmembrana de  $H^+$  inducidos por el DHA, paralelos a un aumento en la fluidez de membrana, así como a cambios en su estructura. No obstante, los efectos deletéreos del envejecimiento sobre la función bioenergética mitocondrial no parecen revertir con la incorporación de PUFA n-3 de cadena larga (Stiwell, et al., 1997).

Watkins, et al. (1998) sugieren que el DHA incrementa la producción de oxidantes en células de adenocarcinoma de colon humano, respecto a cualquiera de los demás ácidos grasos empleados (oleico, linoleico, araquidónico o EPA) por acumulación de los mismos en cardiolipinas de membrana, donde su presencia altera la eficacia del transporte de electrones.

El balance entre ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6 de la dieta influye en la composición de ácidos grasos de membranas de cerebro, en la actividad fosfatidiletanolamina-metiltransferasa y en el grado de biosíntesis de fosfatidilcolina, de ratas en periodo de crecimiento. Estos mecanismos de control biosintético representan una respuesta fisiológica normal del cerebro, que puede proporcionar un mecanismo para el tratamiento terapéutico de desórdenes implicados en la degeneración de la estructura lipídica de estas membranas cerebrales (Clandinin, et al., 1992).

Liu, et al. (1994) sugieren que los ácidos grasos n-3 (y en general los poliinsaturados), aumentan la unión de insulina a las vesículas de sarcolema, del músculo esquelético de la rata por modificación de la composición de ácidos grasos de fosfolípidos que rodean el receptor de insulina en la membrana, elevando el número de receptores, éste puede ser el mecanismo por el cual los ácidos grasos de la dieta modifican la acción de dicha hormona.

No hemos encontrado estudios que indiquen los efectos de estos ácidos grasos, cuando son ingeridos a través de la dieta, sobre la funcionalidad de las membranas pancreáticas.

### ***Influencia de los PUFA n-6***

Es conocido que ciertos ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6, como linoleico y araquidónico, pueden estimular las actividades ATPasa- $Na^+/K^+$  y ATPasa- $Ca^{2+}$ , ligadas a la

membrana, las cuales inducen procesos de absorción en el enterocito duodenal. HaaG, et al. (1999) demuestran que los ácidos grasos linoleico y  $\gamma$ -linolénico inhiben en un 30-50% la actividad de otra enzima, la ATPasa-  $Mg^{2+}$ , implicada en la absorción de  $Mg^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ , así como en el control de la distribución de fosfolípidos en la membrana, en la membrana basolateral del enterocito, pudiendo modular diversos procesos de transporte celular.

En ratas alimentadas con dietas ricas en ácido linoleico oxidado durante 4 semanas se observa un aumento significativo en la fluidez de los microsomas hepáticos, respecto a la encontrada en las membranas microsomales del grupo control; este hecho parece ser debido a las profundas diferencias observadas en la composición lipídica de los mismos, junto a un descenso en la relación molar C/FL y un mayor contenido en ácido araquidónico en FL de las membranas de las ratas alimentadas con la dieta experimental. Las diferencias en la fluidez se acompañan por un incremento en la actividad de las enzimas microsomales, aldehido-deshidrogenasa y NADPH-cit-C-reductasa, estas alteraciones son probablemente asociadas con un *turnover* de colesterol mayor, determinado por la mayor excreción del mismo, que se observa en el grupo experimental (Hochgraf, et al., 1997).

Medidas del metabolismo de HDL, realizados en hamsters alimentados con grasas de diferentes grados de saturación, ponen de manifiesto el mecanismo, a nivel de membrana, por el cual la insaturación de la grasa disminuye los niveles de HDL-c, con el consiguiente efecto colesterolémico. La capacidad de las membranas hepáticas para unir HDL humana es significativamente superior en hamsters alimentados con aceite de maíz (PUFA n-6), comparado con el grupo que ingiere aceite de palma (SFA), encontrándose valores intermedios para el grupo oliva (MUFA). Por tanto, el aceite de maíz ingerido en la dieta, en comparación al de oliva o de palma, puede disminuir la concentración de HDL por incremento de la unión de HDL a las membranas celulares de células hepáticas (Terpstra, et al, 2000). En ratas, el aporte de aceite de girasol incrementa significativamente la capacidad máxima de unión de HDL a la membrana de adipocito, posiblemente a consecuencia de una alteración en la composición de fosfolípidos de membrana (Zsigmond, et al. (1990).

El envejecimiento viene asociándose con cambios en la composición de las membranas de las células nerviosas, que incluyen un descenso de su contenido en PUFA, incluido ácido araquidónico (AA), y un incremento en los niveles de colesterol en la misma. Un debilitamiento en las interacciones ligando-receptor, tras un cambio en la composición lipídica de la membrana, puede ser la causa de determinados cambios funcionales relacionados con la misma. Así, un incremento en la concentración de PUFA de estas membranas se traduce en una reversión de los cambios experimentados con la edad en el contenido en AA, en la expresión de interleukina-1 (IL-1), así como en el descenso en la liberación de glutamato (McGahon, et al., 1998).

Se ha encontrado que las dietas deficientes en ácido linoleico, o que al menos presentan relaciones inusuales de linoleico/ $\alpha$ -linolénico, inducen cambios en la composición de PUFA de las membranas neuronales y gliales, que se han venido asociando a alteraciones en la función de cerebro y retina respectivamente. Estos efectos funcionales son presumiblemente el resultado de las consecuencias bioquímicas de la modificación en el contenido en PUFA, entre otras, modificaciones en la fluidez de membrana, en las actividades asociadas a membrana, en las proteínas funcionales (transportadores, receptores, enzimas) y en la producción de importantes moléculas señal de derivados de los ácidos linoleico oxigenado y  $\alpha$ -linolénico. A pesar de que diversos estudios demuestran que la función del sistema nervioso central cambia cuando la ingesta de PUFA es alterada, y que, en líneas generales, el contenido de PUFA en membrana influye en las funciones de ésta, son escasos los trabajos enfocados específicamente sobre retina y cerebro para revelar las bases bioquímicas de estos efectos (Fernstrom, 1999).

Otro estudio interesante es el realizado en las membranas plasmáticas de neuronas, obtenidas *postmortem*, de pacientes esquizofrénicos. Éste pone de manifiesto reducciones de PUFA y SFA totales, así como cantidades significativamente menores de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina. La reducción de PUFA se atribuye a un descenso en los niveles de ácido araquidónico, y en menor medida, de sus precursores, linoleico y eicosanoides. Estos resultados sugieren que un déficit de ácido araquidónico en estas membranas puede contribuir a muchos de los fenómenos biológicos, fisiológicos y clínicos observados en la esquizofrenia (Yao, et al., 2000).

El incremento en la prevalencia de enfermedades atópicas ha venido relacionándose recientemente con el consumo alterado de PUFA. La dieta típica americana contiene cantidades diez veces mayores de ácido linoleico que de  $\alpha$ -linolénico (n-3). Consiguientemente, los eicosanoides derivados del ácido araquidónico alteran el balance de células T tipo 1 y 2, las cuales favorecen la producción de Ig E. Los ácidos grasos n-3 de la dieta pueden tener una marcada influencia sobre las respuestas inmunes específicas y no específicas en la producción de eicosanoides modificados y sustitución de ácidos grasos n-6 en las membranas celulares. Por tanto, la manipulación de los PUFA de la dieta puede jugar un papel clave en el mantenimiento eficaz de la inflamación asociada con enfermedades atópicas, por sus efectos a nivel de membranas celulares del sistema inmune (Kankaanpaa, et al., 1999).

La composición en ácidos grasos de fosfolípidos de membranas de linfocitos se ha visto afectada por la manipulación lipídica en la dieta, en ratas alimentadas con dietas altas (200 g/kg) o bajas (50 g/kg) en grasa, procedente ésta de aceite de soja (PUFA n-6) o de coco (SFA) durante un periodo de ocho semanas. Estas diferencias influyen en las funciones del linfocito. Los efectos inmunosupresores inducidos por los ácidos grasos poliinsaturados pueden ser debidos a un aumento de ácido linoleico o a un descenso de oleico, que afectan a procesos en los que intervienen muchos componentes de la membrana plasmática, que están implicados en la activación de los linfocitos (Moussa, et al., 2000).

El ácido araquidónico disminuye la producción de AMPc a través de una modificación de proteínas G, a nivel de membrana. Marinero, et al. (2000) indican que dicho ácido graso inhibe la actividad GTPasa de la familia de proteínas Gi presente en las membranas de las células de Leydig de rata. De otra parte, mantiene estas proteínas Gi en su estado activo, las cuales inhiben la adenilato-ciclasa, con el consiguiente descenso en los niveles de AMPc.

También se ha implicado dicho ácido graso en la modulación de varios procesos de transporte, incluido el de iones cloro a través de las membranas de placenta humana. Riquelme and Parra (1999) observan una inhibición irreversible de los canales de cloro con concentraciones micromoleculares bajas de ácido araquidónico; otros UFA como oleico o linoleico muestran una acción bloqueante similar, dependiendo el grado de inhibición de la

dosis administrada. Desde un punto de vista funcional, el control de estos canales por el ácido graso puede ser de gran importancia en las características fisiológicas de la placenta.

Al igual que para la cantidad de grasa, se ha descrito que los PUFA n-6 originan un aumento en la actividad específica de la nucleósido trifosfatasa (NTPasa), enzima ligada a las membranas nucleares, que interviene en la función celular (los PUFA n-3 ejercen un efecto negativo sobre dicha actividad) (Ammouche, et al., 1994).

La ausencia de investigación acerca del efecto de estos ácidos grasos a nivel pancreático no nos permite aclarar este aspecto. Lo que sí se ha observado es que el ácido araquidónico, administrado *in vitro* a acinos pancreáticos, estimula ligeramente la secreción de amilasa (Pandol, et al., 1991) e incrementa la  $[Ca^{2+}]_i$ , independientemente del inositol-trifosfato ( $IP_3$ ) (Stenson and Lobos, 1982; Tsunoda, and Owyang, 1995). No obstante, también han sido descritos efectos inhibidores de dicha secreción, tras la administración de ácido araquidónico (Maruyama, 1990).

### **Influencia de los ácidos grasos *trans* de la dieta**

El grado de hidrogenación y el contenido en ácidos grasos *trans* de la grasa de la dieta afectan también a la cantidad y a la actividad de algunas enzimas asociadas a las membranas, a través de cambios en la composición de ácidos grasos de las mismas. Por ello, este aspecto no debe ser ignorado cuando se programan dietas con niveles bajos de ácidos grasos saturados de la dieta, con objeto de disminuir la LDL en la hipercolesterolemia.

La presencia de niveles elevados de isómeros *trans* de ácidos monoinsaturados interfiere en la actividad delta-5-desaturasa de la membrana plasmática de microsomas hepáticos de rata (Blomstrand, et al., 1985). Otro estudio demuestra que los ácidos grasos *trans* de la dieta son diferencialmente incorporados en los lípidos de dichas membranas y que actúan como inhibidores de las actividades delta 6 y 9 desaturasas. Puesto que la delta 6 desaturasa se considera una enzima clave en la conversión de ácidos grasos esenciales a araquidónico y prostaglandinas, los datos indican que la presencia de ácidos grasos *trans* en la dieta puede inducir algunos efectos sobre el metabolismo de ácidos grasos esenciales a través de su acción

sobre las desaturasas (Kurata and Privett, 1980; Mahfouz, 1981; De Schrijver and Privett, 1982; Holmer, et al., 1982; Thomasen, et al., 1984).

El contenido en citocromo P<sub>450</sub>, y las actividades de distintas enzimas ligadas a los microsomas hepáticos de rata dependen del grado de insaturación de la grasa de la dieta, como ocurre con la aminopirina-N-desmetilasa, por otro lado, la actividad de anilina hidroxilasa se correlaciona concretamente con el contenido en ácidos grasos *trans* alimentarios, que a su vez es reflejado en la composición de ácidos grasos *trans* de las membranas microsomales. La actividad UDP-glucuronil-transferasa muestra valores intermedios para los grupos alimentados con aceite de pescado parcial y totalmente hidrogenado, respecto de los que ingieren aceite de pescado corriente o de girasol (Morgado, et al., 1998).

Los ácidos grasos *trans*, combinados con una dieta inadecuada en Mg<sup>2+</sup> pueden incrementar en humanos el riesgo de calcificación de las células endoteliales, al afectar a la composición lipídica de sus membranas y al flujo de calcio al interior celular (Kummerow, et al., 1999).

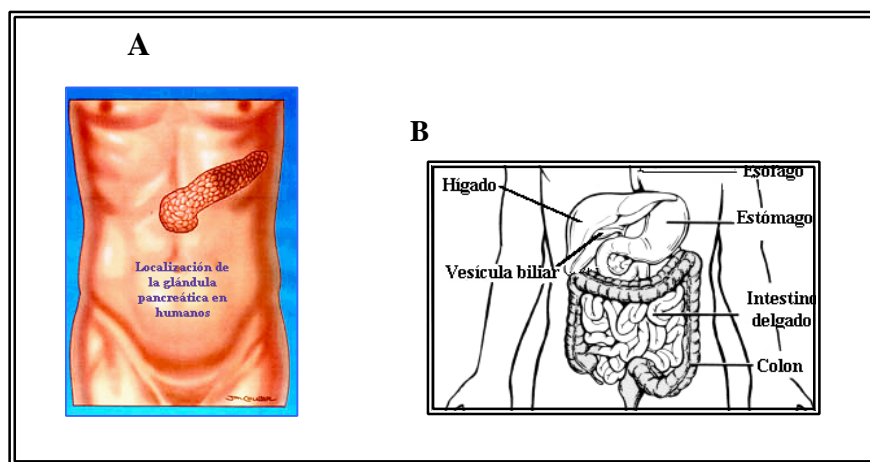
Las alteraciones observadas tras la ingesta de ácido elaídico (C18:1<sub>n-9</sub> *trans*) en la composición de la membrana de sarcolema, en células cardíacas de rata, sugieren modificaciones funcionales en dichas membranas (Awad and Chattopadhyay, 1983).

En lo que respecta al efecto sobre la funcionalidad pancreática ligada a membrana, no existen estudios que impliquen a este tipo de ácidos grasos.

## 5. GRASA DE LA DIETA Y PÁNCREAS EXOCRINO

### 5.1.-ANATOMÍA PANCREÁTICA

El páncreas es una glándula compuesta, localizada en la región superior de la cavidad abdominal, tras el estómago, que se extiende de forma oblicua y por encima de duodeno desde las asas duodenales hasta el bazo, a la altura de las vértebras lumbares I y II (Figura 7).



**Figura 7:** (A) Localización del páncreas en el hombre. (B) Se puede observar su relación física con estómago, duodeno, hígado y vesícula biliar, que justifica su interacción a nivel funcional.

A nivel macroscópico se observa de color rosado y presenta organización lobular. Se encuentra dividido en cuatro regiones: cabeza, cuello, cuerpo y cola, y está revestido de una capa muy fina de tejido conectivo laxo, del que confluyen hacia el interior septos que lo dividen en lóbulos. En el conejo se observa como un órgano difuso, con peso comprendido entre 2 y 5 g para animales de 2.5 a 3 kg, respectivamente. En otras especies el peso glandular es variable, así como la consistencia, que se muestra mayor en la rata, el perro o en el hombre.

La irrigación sanguínea del páncreas corre a cargo de las arterias celiaca y mesentérica superior, las cuales se bifurcan en ramas y éstas a su vez en pequeños vasos sanguíneos que alcanzan todo el tejido. El drenaje venoso de la glándula tiene lugar a través de las venas

esplénica y mesentérica superior que dirigen el flujo al sistema portal, a nivel de la vena porta (Gorelick and Jamieson, 1987).

El sistema linfático del páncreas drena al linfocentro, que agrupa a los ganglios esplénicos y a los ganglios pancreático-duodenales (Sandoval, 1975).

El tejido pancreático se encuentra innervado intrínseca y extrínsecamente:

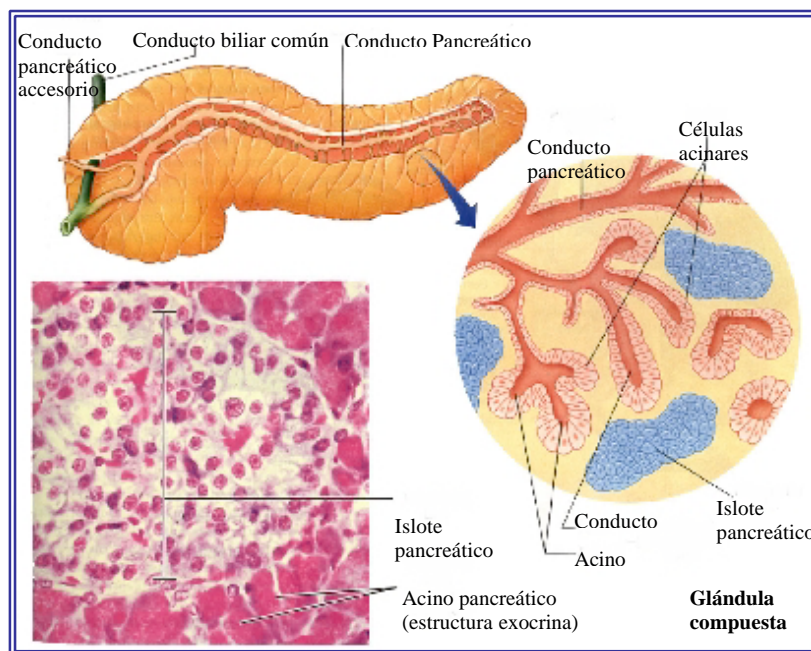
(a) El sistema nervioso interno lo conforma una serie de ganglios interconectados, que constituyen plexos, localizados principalmente a nivel del tejido conectivo interlobular (Case and Argent, 1993), en los cuales desembocan determinadas fibras vagales (preganglionares) y de los que parten otras (postganglionares). Una serie de neuronas, fundamentalmente colinérgicas, acompañadas de otras aminérgicas y peptidérgicas, liberan diversos péptidos relacionados con la secreción exocrina.

(b) La innervación extrínseca la constituyen las divisiones simpática y parasimpática del sistema nervioso autónomo (SNA), cuya localización principal es a nivel de la cabeza glandular (Gorelick and Jamielson, 1987). A través del nervio vago llegan fibras parasimpáticas preganglionares que, atravesando el ganglio celíaco y sin realizar sinapsis, llegan hasta los ganglios pancreáticos intrínsecos. La innervación simpática corre a cargo de los ganglios esplénicos, que se dirigen hasta el ganglio celíaco. Una vez aquí, y tras hacer sinapsis, las fibras postganglionares se dirigen paralelamente a las arterias mesentérica superior y hepática, así como a sus ramas, innervando así la red vascular pancreática (Bockman, 1993).

En lo que respecta a su funcionalidad, el páncreas se encuentra diferenciado en una porción *exocrina*, que representa la mayor proporción del volumen glandular (84%), y en otra *endocrina*, que constituye tan sólo el 2% del tejido. El conjunto de células ductulares y vasos sanguíneos conforman un 4%, correspondiendo el 10% restante a la matriz extracelular (Gorelick and Jamielson, 1987). La responsabilidad de la diferenciación funcional de ambas porciones se atribuye a los distintos tipos de agrupaciones celulares que las constituyen. Así, las células acinares llevan a cabo la síntesis y secreción de enzimas y las ductulares de jugo



pancreático (Schulz, 1981; Case and Argent, 1989). La producción de hormonas implicadas en el metabolismo de carbohidratos, tales como insulina, glucagón, etc, es llevada a cabo por los distintos tipos de células que componen los islotes de Langherhans, localizados en la porción endocrina del páncreas y una vez sintetizadas son vertidas al torrente circulatorio (Chey, 1993). Ambas porciones están íntimamente relacionadas, de modo que los islotes se distribuyen por todo el tejido pancreático, situándose alrededor las células acinares (Figura 8).



**Figura 8:** Porciones exocrina (*acinos y sistema ductal*) y endocrina (*islotes de Langherhans*) del páncreas. Se diferencian los conductos pancreáticos: (a) principal o de *Wirsung* y (b) accesorio o de *Santorini*. En el conejo no existe conducto pancreático accesorio (Hallenbeck, 1967).

## 5.2.-ORGANIZACIÓN ESTRUCTURAL DEL PÁNCREAS EXOCRINO

Desde el punto de vista estructural, el páncreas exocrino se divide en:

**A.- PORCIÓN ACINAR.** La subunidad clásica del páncreas exocrino es el *acino pancreático*. Se trata de un conjunto de células uniestratificadas, que se disponen alrededor de un espacio: la luz acinar, y que se rodean de una matriz de tejido conectivo, que continúa y alberga las células constituyentes del sistema ductal.

Mediante microscopía óptica, estas células acinares se observan con forma piramidal y tamaño proporcional a su grado de actividad (Bloom and Fawcett, 1981). Generalmente presentan un considerable grado de diferenciación, distinguiéndose claramente dos polos: (1) apical, enfrentado a la luz del acino, donde se localizan el aparato de Golgi así como los gránulos de zimógeno y las vacuolas intermedias en su proceso de formación (vacuolas de condensación) y (2) basal en el que se disponen núcleo, retículo endoplasmático rugoso (RER) y mitocondrias.

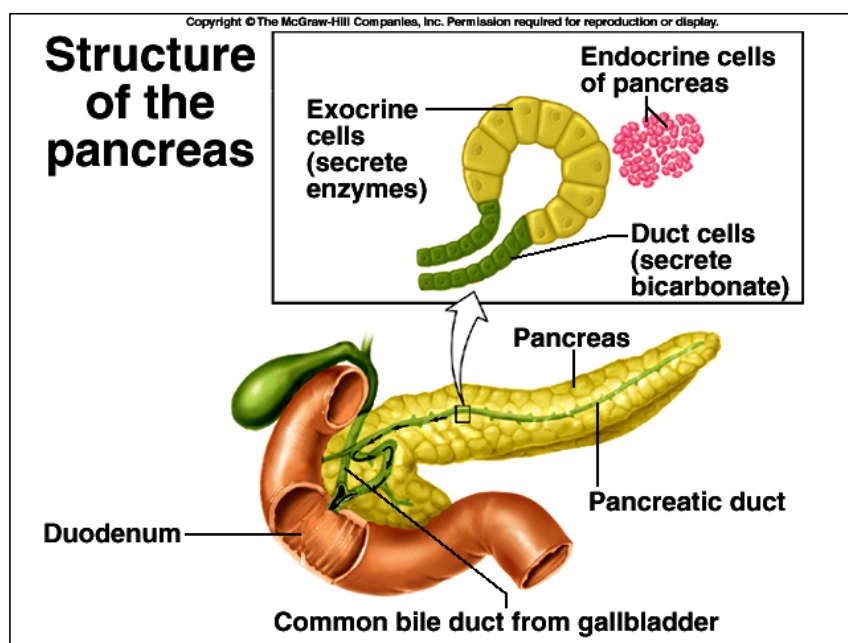
Tradicionalmente se ha venido considerando al páncreas exocrino organizado en verdaderas unidades acinares constituidas por 20-50 células. Sin embargo, estudios recientes sugieren un concepto “menos rígido” respecto de la unidad funcional del páncreas (Akao, et al., 1986), de modo que la comunicación intercelular permite la propagación de señales, ocasionando una mayor respuesta secretora (Lajas, et al., 1998). Funcionalmente, la célula acinar se va a encargar, como se ha citado, de la secreción de enzimas pancreáticos.

**B.- CÉLULAS CENTROACINARES.** Constituyen el comienzo del sistema ductular, presentándose también, aunque escasamente, en el acino. Su principal característica es la ausencia de gránulos de zimógeno en citoplasma. Además, destaca el menor número de cisternas en su retículo endoplasmático (RE), y en general el menor tamaño celular, respecto de las células acinares (Gorelick and Jamieson, 1987).

Desde el punto de vista funcional, estas células se encargan, junto al sistema de conductos, de la secreción de la fracción electrolítica, fundamentalmente bicarbonato (Mizuhira, et al., 1972).

**C.- SISTEMA DUCTULAR.** Está constituido por una compleja red de conductos compuestos por células ductulares (Figura 9), las cuales van adquiriendo un progresivo desarrollo en su calibre, de modo que cada acino es drenado por un conducto pequeño o *intercalar*. La unión de una serie de ellos, procedentes de diferentes acinos, drenan en otros denominados *intralobulares*. La agrupación de estos acinos y su correspondiente sistema de drenaje constituyen un *lóbulo*. De cada lóbulo parten otros conductos, los *interlobulares* que,

como su nombre indica, conectan los diferentes lóbulos. A su vez, de estos últimos parten los conductos *colectores*, que finalmente desembocan de manera general en el *conducto pancreático principal*, también denominado *conducto de Wirsung* (colédoco en la rata, Hebel and Stromberg, 1976). El conducto principal atraviesa el páncreas de cola a cabeza, en disposición longitudinal, uniéndose, en el límite pancreático o bien ya fuera de él, al conducto biliar común, para penetrar en duodeno mediante la formación de la ampolla de Vater. Asimismo, el *conducto de Santorini o conducto pancreático accesorio*, una ramificación del principal, situado en el ámbito de la cabeza del páncreas, puede constituir un sistema de drenaje adicional, cuando la glándula está funcionalmente activa (Figura 8).



**Figura 9:** Estructura del páncreas: diferenciación de las distintas porciones.

A nivel intracelular, la célula ductular presenta escasas semejanzas con la acinar, como la presencia de microvellosidades en el polo apical, pero generalmente destacan más sus diferencias, entre ellas un escaso desarrollo del aparato de Golgi y del RER, así como un gran número de mitocondrias de gran tamaño, en un citoplasma prácticamente vacío. La membrana basolateral presenta una serie de interdigitaciones (Kern, 1986).

### 5.3.-COMPOSICIÓN DE LA SECRECIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA

El jugo pancreático es un fluido acuoso, de viscosidad variable, secretado por el páncreas exocrino. Sus valores de pH oscilan de unas especies a otras, entre 7-9 y está constituido por dos fracciones diferentes:

**A.- FRACCIÓN ELECTROLÍTICA.** Componente en el que se distinguen *cationes* como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , entre otros y *aniones* como  $\text{CO}_3\text{H}^-$  y  $\text{Cl}^-$ , principalmente, aunque aparecen otros en cantidades inferiores (fosfatos, sulfatos, azufre, fósforo, zinc) y asociados a otras moléculas (Ribet, et al., 1985)

Las concentraciones de estos electrolitos suelen ser prácticamente iguales a las plasmáticas, excepto las de  $\text{Cl}^-$  y las de  $\text{CO}_3\text{H}^-$  que, en condiciones basales son superiores e inferiores, respectivamente.

**B.- FRACCIÓN ENZIMÁTICA.** Constituida por proteínas, mayoritariamente con actividad enzimática (90%) (Ribet, et al., 1985). La concentración de éstas determina la densidad del jugo (alrededor de 1 mg/ml), oscilando su volumen durante las 24 horas del día, según la especie.

Los gránulos de zimógeno de las células acinares son los encargados de sintetizar las enzimas. La formación de estas proteínas tiene lugar a partir de los polisomas adheridos a la membrana del retículo endoplásmático rugoso (RER) que, inmediatamente después, son almacenadas en las cisternas de dicho orgánulo, para, tras diversas modificaciones, desprenderse en forma de gránulos que son transportados como vesículas hasta el complejo de Golgi. Una vez allí se unen a su membrana, liberan el contenido enzimático y, tras nuevas modificaciones, se condensan definitivamente en vacuolas, constituyendo los gránulos de zimógeno (Gorelick and Jamielson, 1987).

En base al tipo de sustrato sobre el que actúen, las enzimas pancreáticas se clasifican en:

① **Glicolíticas o amilolíticas:**

-  *$\alpha$ -amilasa*, encargada de hidrolizar enlaces  $\alpha$  (1-4) de moléculas de polisacáridos, originando maltosa y oligosacáridos pequeños (Roberts and Whelan, 1960).

② **Proteolíticas:** Rompen enlaces peptídicos de moléculas proteicas. Se sintetizan como precursores inactivos (zimógenos), con el fin de evitar la autodigestión del páncreas y para llevar a cabo su función enzimática han de ser activados, lo que consiguen una vez liberados a la luz intestinal (Guyton, 1992). La primera en activarse es la tripsina, previa intervención de la enterokinasa intestinal (Tseng, et al., 1982; Houghton, et al., 1983; Mizoguchi, et al., 1987; Rickets, et al., 1994) o de la misma tripsina; el resto de precursores se activan en cadena a partir de la tripsina (Brannon, 1990). En intestino de ratón, existen otros factores activadores, aparte de la enterokinasa, tal y como indican los análisis electroforéticos de proteasas pancreáticas, realizados por Isobe and Ogita (1984).

Las enzimas proteolíticas se agrupan en:

a.- Endopeptidasas, que intervienen en sitios específicos de la cadena, presentando un residuo de serina en su sitio activo (proteasas serínicas). Entre ellas destacan *tripsina*, *quimiotripsina*, *elastasa* y *kalicreína*, siendo las dos primeras las que se presentan en mayor proporción. Ambas poseen formas isómeras diversas, según la especie. La tripsina se encarga de romper enlaces peptídicos entre aminoácidos básicos y el posterior, mientras la quimiotripsina lo hace entre un residuo aromático y el siguiente.

b.- Exopeptidasas, las cuales separan aminoácidos amino o carboxilo terminales de la cadena. Se distinguen las *carboxipeptidasas A* y *B*, habiéndose descrito también *aminopeptidasas* en jugo pancreático, aunque su origen parece ser lisosomal (Rinderk-Necht, 1993).

③ **Lipolíticas:** Encargadas de llevar a cabo la digestión de los lípidos, se diferencian en:

a.- *Lipasa*: Hidroliza los triglicéridos en las posiciones 1 y 3, originando ácidos grasos y 2-monoglicéridos, como productos finales de la digestión. Van a actuar en la interfase agua-lípido, por lo que requieren la emulsión del sustrato (formación de micelas). Para este fin han de intervenir necesariamente las sales biliares, que conceden estabilidad al sustrato, así como un incremento del área de contacto de la interfase.

Mediante análisis de ADN (Northern Blot) se ha demostrado que la región codificadora para la lipasa en conejo consta de 1407 pares de bases, contenidos en un fragmento que codifica para 469 aminoácidos, incluyendo los 16 que forman el péptido señal. Al comparar con otras especies, la enzima presenta homología en un 70-80% a nivel de nucleótido, así como en la secuencia y composición de aminoácidos, con el perro (65%), el cerdo (76%) y la rata (63%). Dicha homología es mayor en el sitio activo para la serina. Las regiones de homología con otras especies pueden ayudar a definir los sitios de interacción de la lipasa a su cofactor, la colipasa (Aleman-Gomez, et al., 1992; Colwell, et al., 1993).

Así pues, la lipasa pancreática requiere para su acción a la colipasa como coenzima. *In vivo*, la acción de la lipasa no tiene lugar sin colipasa, debido a la presencia de sales biliares. El cofactor posibilita el anclaje de lipasa a la interfase agua-lípido. El sistema lipasa-colipasa constituye un excelente ejemplo de interacción específica (proteína-proteína y proteína-lípido) (Chapus, et al., 1988).

Existen trabajos de cuantificación de homólogos de ARNm en páncreas de animales alimentados con dietas altas en grasa que indican una inducción moderada del ARNm de la colipasa por manipulación nutricional (Wicker and Puigserver, 1990). El mecanismo molecular de interacción entre ambas hidrolasas no está totalmente descubierto. No obstante, han sido definidos mecanismos que regulan e influyen en la absorción lipídica. Lipasa y colipasa, cuando están en solución, forman un complejo molar en relación 1:1. La unión y conformación de ambas proteínas en el complejo dependen del tipo de lípidos presentes en la dieta. Una región de 8-16 residuos aminoácidos de colipasa es clave en la interacción de ambas hidrolasas, para constituir el complejo activo (Rugani, et al., 1992). En términos generales, la acción de la lipasa está regulada por la acción combinada de la colipasa y del sustrato lipídico (Erlanson-

Albertsson, 1983). Además, ambas son secretadas en paralelo, tanto *in vivo* como *in vitro*, siendo menor la relación colipasa/lipasa en el jugo que en la glándula, sin saber la razón de esta diferencia (Erlanson- Albertsson, et al., 1987).

b.- *Fosfolipasa A<sub>2</sub>*: Encargada de degradar enlaces ester de fosfolípidos en posición 2, con la consiguiente formación de ácidos grasos y lisofosfolípidos. Su secreción es en forma de proenzima (zimógeno).

c.- *Carboxil ester hidrolasa*: Provoca la hidrólisis de ésteres de colesterol y de retinol, fundamentalmente, utilizando como cofactores las sales biliares.

④ **Nucleolíticas**: Rompen cadenas de nucleótidos a nivel interno (son endonucleasas), liberando ácidos nucleicos. Se han localizado dos: ribonucleasa y desoxirribonucleasa I (Ribet, et al., 1985).

#### **5.4.-REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA**

El control de la secreción pancreática exocrina está mediado por una serie de mecanismos nerviosos y hormonales (también denominados primeros mensajeros) coordinados entre sí, que pueden intervenir como estimuladores o como inhibidores, modulando la secreción de jugo pancreático. Estos primeros mensajeros interactúan con receptores de membrana de las células acinares, tras lo cual se desencadena una serie de procesos conocidos bajo el concepto de “acoplamiento estímulo-secreción” (Douglas, 1968), provocando finalmente una respuesta celular.

##### **5.4.1.-REGULACIÓN NERVIOSA**

La compleja inervación de la glándula pancreática conlleva una serie de consecuencias fisiológicas distintas, como son, de una parte, la implicación en procesos inflamatorios y de carcinógenesis que cursan con dolor y de otra, el control de la secreción pancreática, aspecto que más nos interesa y que detallamos a continuación.

Numerosas investigaciones, realizadas acerca de la extensa inervación enteropancreática, ponen de manifiesto la presencia de neuronas en intestino, que proyectan sus axones al páncreas y que pueden modificar la actividad pancreática (Kirchgessner and Gershon, 1990). Una serie de técnicas histoquímicas y electrofisiológicas muestran un conjunto de neuronas pancreáticas que reciben e integran información sináptica de una variedad de nervios extrínsecos, los cuales proporcionan la inervación predominante en acinos, conductos e islotes de Langerhans pancreáticos. La estimulación de la citada inervación extrínseca altera por tanto, de manera marcada, las secreciones exocrina y endocrina del páncreas, pudiendo mediar la comunicación local entre duodeno y páncreas (Love and Szebeni, 1999 (a,b)).

### **INERVACIÓN COLINÉRGICA**

La estimulación del *nervio vago* es el principal factor responsable de la regulación colinérgica del páncreas exocrino, que provoca una secreción rica en enzimas. A diferencia de otras especies en las que la secreción hidroelectrolítica basal es escasa, en conejo (Seow, et al., 1991) y hamster (Ali, et al., 1990), la estimulación vagal provoca un volumen considerable de la misma. En ratas anestesiadas, la respuesta es similar a la producida por estimulación de CCK (Camello, et al., 1993) o secretina (Widson, et al., 1994). La administración de atropina inhibe la secreción de bicarbonato (Salido et al., 1982), mientras la liberación de acetilcolina corre siempre paralela a la activación vagal.

La vagotomía reduce la secreción de proteínas en concentraciones variables, según las especies. En la rata, el bloqueo de las estructuras colinérgicas a distintos niveles previene el desarrollo normal de adaptación del páncreas exocrino a la calidad de alimento, en la ontogenia (Rianskaia, 1990).

Cabe destacar la implicación de distintos tipos de receptores muscarínicos ( $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$ ,  $M_4$ ,  $M_5$ ) localizados en la membrana acinar del páncreas de rata, conejo, perro, cobaya, gato y humanos (Gardner and Jackson, 1977; Hootman, et al., 1985; Bommeale, et al., 1981; Dehaye, et al., 1984; Susini, et al., 1986; Peralta, et al., 1987; Barnard, et al., 1988), que indican la



participación del sistema nervioso parasimpático en el control de la secreción pancreática exocrina.

### **INERVACIÓN ADRENÉRGICA**

La intervención del sistema nervioso simpático sobre la glándula pancreática, a través de fibras adrenérgicas (Larsson and Rehfeld, 1979), provoca un efecto inhibitor de la secreción de fluido y bicarbonato. Algunos agentes catecolaminérgicos (adrenalina, noradrenalina, etc) ejercen un papel clave en este mecanismo (Messmer, et al., 1993). Esto se ha verificado tras la estimulación de los nervios espláncnicos, pues se produce una acción inhibitora, mientras que la sección de los mismos ocasiona efectos contrarios (estimuladores) (Harper, et al., 1978; Solomon, 1987; Walsh, 1987).

Sin embargo, y de modo excepcional, en conejo se ha mostrado un efecto opuesto de los factores  $\beta$  y  $\alpha$  adrenérgicos, en contra de lo esperado. La acción de los primeros, en concreto del isoproterenol, provoca una estimulación de la secreción de fluido y bicarbonato de modo dosis-dependiente, sin alterar la producción de proteínas, ni el flujo sanguíneo (De Dios, et al., 1987). La fenilefrina, perteneciente al segundo grupo, ejerce el mismo efecto estimulador sobre la fracción hidroelectrolítica, a la vez que estimula la secreción de proteínas y de amilasa (Calvo, et al., En prensa).

En términos generales, el efecto inhibitor de los agentes adrenérgicos puede producirse a diferentes niveles:

a.- Por un control de la liberación de gastrina, a cargo de factores  $\beta$ -adrenérgicos (Stadil and Rehfeld, 1973).

b.- Directamente, a través de un acoplamiento ligando-receptor, en la membrana de la célula acinar. Solamente se han localizado receptores adrenérgicos en acinos pancreáticos de gato (Ribet, et al., 1985).

c.- Como consecuencia de una disminución en el flujo sanguíneo por vasoconstricción, la cual va seguida de una vasodilatación. En este sentido se ha puesto de manifiesto la existencia de receptores adrenérgicos en células del sistema vascular (Barlow, et al., 1974; Mori, et al., 1979). No obstante, no está claro que esto sea así, pues se han obtenido resultados contradictorios por un bloqueo de la acción vasoconstrictora con agentes adrenérgicos.

A nivel de páncreas endocrino, el mecanismo a través del receptor  $\alpha$ -adrenérgico es el componente más importante en la estimulación de la secreción de glucagón, a la vez que inhibe la de insulina, mientras la activación del receptor  $\beta$  estimula la secreción de insulina, inhibiendo la de glucagón, tal y como se ha demostrado en cordero (Oda, et al., 1988), rata (Hirose, et al., 1993 (a, b)) o ratón (Gromada, et al., 1997). Sin embargo, Filiponi, et al. (1986) observan en ratas que, aunque los receptores  $\alpha$  están implicados en la inhibición de la liberación de insulina, inducida por catecolaminas, no se manifiesta un papel esencial en la regulación de la secreción de glucagón. Resultados similares se han observado en perros, en donde la estimulación de los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos incrementa la liberación de somatostatina, insulina y glucagón, mientras que la estimulación de los  $\beta$  inhibe la liberación de somatostatina y de insulina, sin provocar un efecto definitivo sobre el glucagón (Boden, et al., 1982).

### **INERVACIÓN DOPAMINÉRGICA**

La dopamina interviene como factor catecolaminérgico, con resultados que manifiestan efectos dispares interespecies (Solomon, 1987). Así, se han identificado receptores dopaminérgicos en perro, a través de los cuales se inhibe la secreción estimulada por secretina (Furuta, et al., 1972), al igual que ocurre en rata (Mori, et al., 1979), gato y conejo (Hashimoto, et al., 1977), sin observar modificaciones en la secreción enzimática a consecuencia de su estimulación. En humanos sin embargo, la dopamina ejerce un efecto inhibitorio de la secreción de enzimas pancreáticos estimulada por CCK (Valenzuela, et al., 1979) y no sobre la secreción basal o estimulada por secretina (Calflish, et al., 1980; Valenzuela, et al., 1979). No obstante, no se tienen datos acerca de la existencia de células nerviosas con acción dopaminérgica (Vaysse, et al., 1982).

## INERVACIÓN PEPTIDÉRGICA

Diversos estudios muestran la existencia de fibras peptidérgicas a nivel pancreático, implicadas en la regulación nerviosa de la secreción, a través de la liberación por parte de las mismas de una serie de péptidos, tales como encefalina, somatostatina, bombesina, sustancia P y VIP (polipéptido intestinal vasoactivo), entre otros (Larsson and Rehfeld, 1979):

1) **Encefalina**. Ejerce una acción inhibitoria de la secreción enzimática, por modulación de los mecanismos colinérgicos (Louie, et al., 1988).

2) **Somatostatina**. Se caracteriza por su gran potencial inhibitorio de la secreción enzimática *in vivo* (Singh, et al., 1988), con efectos distintos sobre la secreción hidroelectrolítica, según las especies. Así pues, en perro (Boden, et al., 1975) provoca una inhibición competitiva de la secretina, al igual que en humanos (Hanssen, et al., 1977), sin manifestar efecto alguno en rata ni en gato (Erspamer, et al., 1974). Los resultados obtenidos en cobaya y en rata verifican que este péptido inhibe parcialmente la acción estimuladora de secretina y VIP sobre la adenilato ciclasa. Según Jensen, et al. (1989), éste puede ser un efecto mediado por la activación de una proteína G de membrana.

3) **Bombesina**. Estimula la secreción pancreática exocrina, fundamentalmente la fracción enzimática, produciendo un efecto comparable al originado por CCK-8; la estimulación de la fracción electrolítica es de alrededor de un 10% de la producida por secretina (Shingh and Webster, 1978). En perro, su acción estimuladora viene mediada por CCK (Solomon, 1987; Ribet, et al., 1985). La presencia de receptores para bombesina en la membrana de célula acinar ha sido demostrada en cobaya (May, et al., 1978), interviniendo éstos en mecanismos de liberación intracelular de  $Ca^{2+}$  y GMPc, por activación de la FLC, con la consiguiente estimulación de la secreción de enzimas pancreáticas.

4) **Sustancia P**. Ejerce distintos efectos sobre la secreción pancreática, según la especie, de modo que, tanto en cobayas como en ratas procedentes de una línea tumoral (AR42J) ocasiona la activación de la FLC de membrana (May, et al., 1978; Sjödin, et al., 1980). Por el contrario, en el perro, la infusión endovenosa del péptido inhibe la secreción pancreática

inducida por secretina, ceruleína, pH ácido o por la presencia de alimento en duodeno (Konturek, et al., 1976).

5) *Péptido Intestinal Vasoactivo (Vip)*. A pesar de considerarse inicialmente como un péptido gastrointestinal, aislado a partir de duodeno porcino (Said and Mutt, 1970) se ha mostrado, dada su ubicuidad, la presencia adicional del mismo en el sistema nervioso central y en el periférico (Laburthe, 1985), donde actúa como neurotransmisor o neuromodulador. Particularmente, distintas partes del cerebro, así como el tracto gastrointestinal son ricas en este *neuropéptido*. También se localiza en páncreas, tractos respiratorio y genitourinario, retina, corazón, vasos sanguíneos y linfáticos, entre otros.

Mediante técnicas inmunohistoquímicas, se ha localizado en nervios del páncreas de todas las especies estudiadas, y en particular en la pared del conducto pancreático principal, lo que proporciona la base morfológica para aceptar la acción del VIP sobre la secreción pancreática como fisiológica (Sundler, et al., 1978). Estudios en pollos sugieren que las fibras nerviosas colinérgicas que contienen VIP inervan las células B pancreáticas, mientras la inervación colinérgica que no contiene VIP lo hace sobre las células D (Hiramatsu and Oshima, 1997).

Asimismo, interviene como *péptido endocrino*, como observan Fujimiya and Inui (2000) o como inmunopéptido, implicado en enfermedades autoinmunes e inflamatorias (Gomariz, et al., 2001).

La vida media de VIP es muy corta (del orden de un minuto en el hombre) y sus niveles plasmáticos son bajos y relativamente constantes (Said, 1984). No obstante, diversos factores aparecen implicados en el incremento de los niveles circulantes de VIP, entre los que cabe destacar la administración intraduodenal de *grasa* y de HCl, así como la distensión mecánica del esófago o de la mucosa intestinal. La infusión intravenosa de acetilcolina o de inhibidores de la acetilcolinesterasa da lugar igualmente a la liberación del péptido. La estimulación eléctrica de fibras preganglionares colinérgicas en distintos órganos, entre ellos el páncreas, también parece

ejercer una acción excitadora sobre las neuronas vipérgicas, mientras el empleo de bloqueantes ganglionares inhibe la liberación de VIP (Fahrenkrug and Ottesen, 1982).

Entre las diversas acciones biológicas ejercidas por el VIP sobre los distintos órganos y tejidos del organismo, destaca su efecto sobre la relajación de la musculatura lisa (al ejercer una acción vasodilatadora), así como la estimulación de las secreciones hidroelectrolíticas del tubo digestivo (intestino y estómago), páncreas y vesícula biliar. A nivel pancreático, interviene directamente sobre la liberación de insulina, glucagón y somatostatina (Laburthe, 1985; Said, 1984).

Como otros neurotransmisores y hormonas, el VIP actúa por unión a receptores de membrana acoplados a la AC, a través de una proteína G estimuladora (Gs), dependiente de guanidil nucleótidos (Rosselin, 1986; Christophe, et al., 1986). A pesar de ser ésta la vía fundamental de transducción del péptido, existen datos acerca de la vía de la FLC, aunque esto ocurre a altas concentraciones del mismo. Su unión a receptores específicos de membrana incrementa la secreción enzimática del páncreas exocrino, a través del aumento en los niveles de AMPc intracelular (Williams, et al., 1989; Jensen, 1994; Lajas, et al., 1995; Camello, et al., 1997).

#### **5.4.2.-REGULACIÓN HORMORAL**

Las hormonas gastrointestinales no están concentradas en glándulas específicas, sino que son secretadas por células irregularmente repartidas por la mucosa gastrointestinal y/o en los plexos nerviosos mientéricos y submucosos (Muñoz Barragán, 1992). La presencia de un pH ácido en duodeno provoca la liberación de determinadas hormonas gastrointestinales, fundamentalmente CCK y secretina (Chey, et al., 1993).

#### **SECRETINA**

La secretina es la hormonal intestinal con mayor potencial estimulador de la secreción de fluido y bicarbonato en todas las especies estudiadas. Es admitido que fundamentalmente ejerce su acción sobre la célula ductular, como se ha demostrado en conejo (Schulz, et al.,

1969), aunque en menor grado también lo hace sobre la célula acinar pancreática, tal y como se observa a partir de estudios *in vivo* en rata (Blomfield and Setttee, 1983) o en cobaya, con el consiguiente incremento en los niveles de AMPc (Jensen and Gardner, 1981; Gardner, et al., 1983). Ambos tipos celulares presentan receptores de membrana distintos (Case, 1978; Bissonnette, et al., 1984). El citado incremento en AMPc, así como el de FLC, y su efecto sobre la secreción de enzimas, no es observado en perro, gato ni conejo (Case and Argent, 1986). En el hombre se acepta una estimulación de la secreción enzimática, probablemente por acción directa sobre la célula acinar (Gullo, et al., 1984).

Existen dos formas moleculares de secretina, de 27 y 30 aminoácidos, sintetizadas por las células S del intestino delgado, principalmente a nivel de duodeno y yeyuno. Asimismo, está presente en células del sistema nervioso (O'Donohue, et al., 1981). Ha sido determinada en diversas especies animales y en humanos, descubriéndose inicialmente en cerdo (Jorpes, et al., 1962). Su vida media en plasma oscila entre dos y cuatro minutos (Hacki, 1980).

Determinados péptidos que presentan una estructura homóloga se incluyen dentro de la familia de la secretina, entre los que cabe citar el VIP, péptido histidina-isolucina, GIP, glucagón y enteroglucagón (Chey and Chang, 1989).

El valor de pH duodenal es un factor clave implicado en la liberación de la secretina, de modo que ha sido determinado un valor umbral del mismo, tanto para la carga ácida, como para la porción de intestino delgado acidificado, que determina en mayor o menor medida la secreción de bicarbonato y la liberación del péptido paralelamente (Meyer, et al., 1970). En perro, este valor corresponde a 4.5, responsable también de la descarga de agua y bicarbonato (Chey, et al., 1981).

Por otra parte, la respuesta postprandial conlleva liberación de secretina en perro (Huertas, et al., 1991), aunque con niveles plasmáticos relativamente pequeños, como se demuestra también en rata (Sewell and Young, 1975). En herbívoros, tal y como se ha citado, la respuesta basal es relativamente elevada y menor frente a secretagogos (Case, et al., 1978). No obstante, existen estudios en conejos anestesiados que demuestran un marcado incremento del

flujo pancreático en respuesta a secretina, mostrando sensibilidad a esta hormona (Murillo and López, 1971).

Los ácidos grasos procedentes de la digestión de los triglicéridos de la dieta parecen ser los únicos nutrientes capaces de estimular la secreción de secretina. Ni la infusión intraduodenal de los mismos, ni otros componentes alimentarios, como almidón o glucosa, producen incremento alguno en la secreción de jugo pancreático, ni de bicarbonato (Chey and Chang, 1989).

A pesar de su carácter esencial a la hora de estimular la secreción de fluido y bicarbonato, este péptido no parece ser el único factor responsable de la respuesta secretora al alimento en su totalidad, sino que otros secretagogos actúan como potenciadores de la misma de manera conjunta, entre los que se encuentran CCK y acetilcolina.

La administración conjunta de secretina y CCK ejerce efectos distintos según la especie, de modo que, en ratas aumenta la secreción al ser comparada con la que producen ambas hormonas por separado (Singh, et al., 1992; Camello, et al., 1994). En esta especie, la respuesta secretora tras la interacción hormonal es observada a nivel de movilización de  $Ca^{2+}$  y de  $Mg^{2+}$  intracelulares (Shing, et al., 1992). Resultados similares obtiene Moriyoshi (1989) con dosis fisiológicas de secretina, las cuales potencian el efecto estimulador de CCK-8 sobre la secreción pancreática en estos animales. En el cobaya, la simultaneidad en la administración de ambas hormonas conlleva también una potenciación de sus efectos, que son mediados vía colinérgica a nivel de tejido, pero no a nivel de célula secretora dispersa (Alcon, et al., 1996).

La administración intravenosa de secretina y CCK estimula distintas fracciones del jugo pancreático, en perros canulados gástrica y duodenalmente. Ahora bien, la secreción de secretina se ve abolida en una de las fracciones mediante tratamiento con tripsina y no por calentamiento, mientras la de fluido y bicarbonato lo hace tras inyección de suero anti-secretina de conejo, lo que sugiere la presencia de un péptido liberador de secretina en el jugo pancreático canino, sensible a la tripsina y resistente al calor, que puede jugar un papel importante en la liberación de secretina y en la regulación de la secreción pancreática exocrina (Li, et al., 2000).

También se ha puesto de manifiesto un sinergismo entre la estimulación vagal y la de secretina para la producción de bicarbonato, interviniendo las fibras vagales directamente sobre la glándula pancreática (Chey and Chang, 1989).

Inicialmente se pensó que la secreción de proteínas enzimáticas, paralela a la de bicarbonato en respuesta a la liberación de secretina, era debida a un arrastre de aquéllas que se encontraban a su paso por los conductos. Sin embargo, estudios posteriores (Calpena, et al., 1987) muestran una estimulación, aunque débil, de la secreción enzimática por secretina, cuando las dosis empleadas de dicha hormona son superiores a las requeridas para la estimulación de la fracción hidroelectrolítica. En ratas se observa incremento en el peso de la glándula, así como en los niveles de ARNm de las enzimas, tras la administración de secretina, cuando las dosis son mayores a los valores fisiológicos (Solomon, et al., 1978). Chey, et al. (1979) observan en perros una disminución en la secreción postprandial de ambas fracciones, por la infusión intravenosa de suero anti-secretina.

Aparte de la acidificación y de la presencia de alimento en la luz duodenal, la bilis es otro factor que produce una estimulación dosis-dependiente de los niveles séricos de secretina (Riepl, 1993). Las sales biliares ejercen una acción semejante, ya sea por sí solas o en una solución similar a la que constituye la bilis humana. Sin embargo, los efectos son nulos cuando son administradas en una dieta líquida, ya sea ingerida o infundida a nivel gástrico.

De otra parte, la secretina está involucrada en la regulación de la secreción de jugo pancreático por retroalimentación negativa en perros, en la que están implicadas las proteasas (Shiratori, et al., 1989; Imamura, et al., 1993).

### **COLECISTOQUININA (CCK)**

A pesar de haber sido descrita, allá por los años veinte, una sustancia en la mucosa duodenal, responsable de las contracciones en la vesícula biliar, y con posterioridad otra capaz de estimular la secreción de enzimas pancreáticos, no fue hasta 1973, cuando Jorpes and Mutt comprobaron que se trataba de la misma hormona, abriendo el camino hacia el conocimiento de



la colecistoquinina-pancreozimina (CCK-PZ). Poco tiempo después, Polak, et al. (1975) y Buffa, et al. (1976) identificaron, mediante técnicas inmunocitoquímicas, la localización de las células secretoras de dicha hormona, situadas en las mucosas duodenal y yeyunal. Este procedimiento, junto con otros realizados mediante RIA (radioinmunoensayo), consiguieron determinar las células responsables de su secreción, células I, previamente descritas por Go, et al. (1978).

La hormona fue aislada como un polipéptido de 33 aminoácidos, aunque son diversos los tipos moleculares descritos en su forma natural, caracterizados por presentar distinta longitud de cadena (4, 5, 8, 12, 22, 33, 39 y 58 aminoácidos), siendo todos fragmentos procedentes de la CCK-58 (Marx, et al., 1987; Rehfeld, 1989). Para su actividad biológica requiere, como mínimo, la presencia de un tetrapéptido amidado (Trp-Met-Asp-Phe-NH<sub>2</sub>) en su extremo carboxilo-terminal. Su efecto biológico a niveles fisiológicos requiere un heptapéptido, también amidado en C-terminal, con la Tyr de la posición 7 sulfatada (Tyr(SO<sub>4</sub>)-Met-Gly-Trp-Met-Asp-Phe-NH<sub>2</sub>). El pentapéptido amidado en C-terminal es análogo al de secretina.

Respecto de su actividad, se ha venido pensando que la CCK-8 era la más potente de todas las formas moleculares, describiéndose posteriormente similitud con las formas 58 y 33, en lo que respecta a su acción a nivel acinar (Walsh, 1987).

Experimentos de gastrectomía, vagotomía truncal y colectomía subtotal estimulan el crecimiento glandular y alteran la composición de enzimas pancreáticos. El patrón de comportamiento de CCK en estas condiciones indica que éste parece ser el principal candidato hormonal para promover la respuesta pancreática adaptativa observada (Buchler, et al., 1988).

A nivel pancreático esta hormona es un potente estimulador de la secreción de la fracción enzimática del páncreas exocrino (Grossman, 1977), así como de la síntesis proteica (Dagorn, et al., 1984) aunque también ejerce un efecto potenciador sobre la secreción de bicarbonato (Solomon, 1994). Así, se considera el principal mediador de la fase intestinal de la secreción pancreática exocrina (Stubbs and Stabile, 1985). Dicho efecto se ve apoyado tras administrar bloqueantes de receptores de CCK, pues provocan una inhibición en el volumen de

jugo y en la producción de bicarbonato estimulados previamente con secretina y CCK exógenas (Cantor et al., 1991).

En perros, se ha observado que el incremento de CCK en plasma va acompañado de aumentos significativos en la secreción pancreática de enzimas, volumen de jugo y de bicarbonato y producción de proteína, sin que los niveles plasmáticos de secretina se vean afectados, atribuyendo por ello a la CCK un papel estimulador sobre la secreción de bicarbonato (Moriyasu, et al., 1994).

El papel de la CCK como mediador del mecanismo adaptativo queda también reflejado en ratas, observándose alteraciones en la secreción de amilasa estimulada por CCK, tras la ingesta de dietas altas o bajas en grasa (Takaori, K., et al., 1995).

Estudios realizados en gránulos de zimógeno pancreáticos de conejo muestran cómo la CCK induce una liberación selectiva de los más grandes, que contienen mayor porcentaje de tripsinógeno, con el consiguiente mecanismo “no-paralelo” de secreción enzimática (de Dios, et al., 1999).

En las células  $\beta$  de islotes pancreáticos de rata se ha localizado inmunorreactividad ligada a CCK, junto con insulina. Técnicas de amplificación de ADN por PCR muestran, tanto en islotes como en duodeno, que se trata de un fragmento de 350 nucleótidos (Shimizu, et al., 1998). La hibridación *in situ* muestra ARNm de CCK en islotes de ratas adultas, pero no durante el desarrollo prematuro. A pesar de no detectarse células CCK(+) en islotes pancreáticos fetales y neonatales, la CCK se expresa en ellos durante y después del nacimiento, así como en la etapa adulta, indicando que la citada hormona puede ser regulada durante la etapa de desarrollo (Shimizu, et al., 1999).

A distintos niveles del tracto gastrointestinal, la CCK ejerce diversos efectos, observándose inducción de la secreción de pepsinógeno, que se lleva a cabo por las células gástricas y un efecto trófico del páncreas (Lankisch, 1980); también estimula la secreción de

bicarbonato, a nivel tanto gástrico como duodenoproximal (Konturek, et al., 1985) y la contracción de la vesícula biliar, por relajación del esfínter de Oddi (Walsh, 1987).

Asimismo, existe amplia evidencia de que la CCK liberada a la circulación durante la digestión es capaz de regular la ingesta de alimentos y de actuar como integradora de las funciones intestinales y cerebrales. La administración CCK-8 reduce la cantidad de alimento ingerido en la rata (Hsiao and Spencer, 1983), ratón (Koopmans, et al., 1972), mono (Falasco, et al., 1979) o humanos (Kissileff, et al., 1981).

Cuando la CCK-8 y la secretina son administradas conjuntamente en dosis fisiológicas, potencian cada una la acción estimuladora de la otra sobre la secreción pancreática exocrina en ratas; dicha acción parece estar modulada vía colinérgica (Haarstad and Petersen, 1988; Moriyoshi, 1989; Rosch, et al., 1989; Li, et al., 1990; Moriyoshi, et al., 1991; Camello, et al., 1994).

### **POLIPÉPTIDO PANCREÁTICO (PP)**

Fue aislado inicialmente de páncreas de pollo y con posterioridad en diferentes especies de mamíferos, a partir de extractos pancreáticos. Se trata de un polipéptido constituido por 36 aminoácidos, que presenta diversidad molecular, atribuida bien a productos de la degradación del péptido, bien a moléculas precursoras (Walsh, 1987).

Es sintetizado principalmente por las células PP de los islotes de Langerhans, aunque también se han podido localizar células productoras en la porción exocrina del páncreas. Se ha sugerido una función paracrina del péptido, tras observarse la presencia de complejos de unión entre las células PP y células acinares adyacentes.

La totalidad de su acción biológica corre a cargo del hexapéptido C-terminal (Konturek, et al., 1982), ejerciendo su efecto inhibitor tanto sobre la secreción pancreática exocrina estimulada, como sobre la basal, y en sus dos fracciones (Taylor, 1979). Beglinger, et al. (1984) observan una inhibición de la respuesta secretora del páncreas exocrino por PP frente a seis

estimulantes diferentes, indicando un papel importante del mismo en la regulación de la secreción pancreática.

El PP inhibe la secreción pancreática *in vivo*, pero no *in vitro*, lo que sugiere una acción indirecta del mismo. Okumura, et al. (1995) hablan de una posible actuación del PP sobre el núcleo motor dorsal, para modular el tono vagal sobre el páncreas, inhibiendo así la secreción pancreática en ratas.

Funakoshi, et al. (1988) observan en la rata aumentos en la inmunorreactividad plasmática a distintas dosis de PP humano sintético, apoyando la idea de la actividad inhibidora del péptido. En perros, el PP endógeno juega un papel significativo en la regulación de la secreción pancreática, tanto en estado interdigestivo como postprandial (Shiratoki, et al., 1988). La infusión intravenosa de diferentes dosis de PP (las cuales producen incrementos menores en la concentración de PP plasmático que los observados tras la ingesta) inhibe la secreción de bicarbonato y de proteína estimuladas por secretina y ceruleina. Esto sugiere que la cantidad de PP liberado tras una comida es suficiente para inhibir la secreción pancreática (Taylor, et al., 1979).

El efecto regulador de este péptido se lleva a cabo en las tres de secreción de jugo pancreático. Su liberación parece estar bajo control colinérgico, al ser inhibida por acción vagal, así como en respuesta a una comida ficticia (Schwartz, et al., 1976; Taylor, 1979).

A nivel intestinal, se ha descrito la acción estimuladora de los distintos nutrientes (ácidos grasos, aminoácidos o glucosa) sobre la secreción del péptido, destacando en humanos la potente acción de los aminoácidos en intestino medio y proximal, aunque no en distal, seguida del efecto del ácido oleico (Scarpello, et al., 1982). Sin embargo, Yago, et al. (1997) no observan cambios significativos en los niveles plasmáticos de PP en humanos tras un periodo de adaptación de 30 días a dietas líquidas con diferente composición en ácidos grasos, procedentes de aceites de oliva o girasol.

La acción reguladora de los nutrientes sobre este péptido parece ser responsabilidad, de una parte, del control vagal, tal y como se ha mostrado en humanos (Schwartz, et al., 1983) y en

perros (Taylor, et al., 1978), y de otra, de la acción de diferentes péptidos gastrointestinales, como CCK o gastrina, como se ha puesto de manifiesto al ser infundidos vía intravenosa (Taylor, et al., 1978), destacando el efecto como estimulante fisiológico de CCK, sobre todo de CCK-8 y CCK-33, en respuesta a ácido oleico (Regan, et al., 1980; Beglinger, et al., 1984; Fried, et al., 1984; Ahren, et al., 1991). Tanto fenilalanina como triptófano, potentes estimulantes de la liberación de CCK, causan un incremento substancial de PP en el flujo sanguíneo periférico (Lonovics, et al., 1981), aunque los autores sugieren un mecanismo inhibitor de PP directo, no mediado por inhibición de secretina o CCK, cuando es administrado exógenamente.

### **PÉPTIDO TIROSINA-TIROSINA (PYY)**

El PYY es un péptido gastrointestinal, localizado en células endocrinas mucosales de íleon terminal, colon y recto de diferentes especies de mamíferos, incluida la humana. Presenta gran homología estructural con el polipéptido pancreático (PP) y con el neuropéptido Y (NPY). Aislado inicialmente en intestino delgado de cerdo, se trata de un péptido de 36 residuos aminoacídicos, que constituyen una cadena lineal. Su nombre refleja la presencia de dos residuos terminales de tirosina, uno en el extremo amino y el otro en el extremo carboxilo (Adrian, et al., 1985).

La distribución y concentración del mismo a lo largo del tubo digestivo varía según la especie; en humanos se localiza preferentemente en la región distal de colon y recto, apareciendo escasamente en duodeno o estómago (Lundberg, et al., 1982; Aponte, et al., 1985); en pollo destaca su presencia en duodeno y yeyuno, y poco frecuente en íleon o colon (El-Salhy., et al., 1983); tanto la rata (Lundberg, et al., 1982) como el perro (Zhang, et al., 1992) han mostrado la presencia de células inmunorreactivas PYY a nivel pancreático.

La infusión intravenosa de dosis de 200 y 400 pmol/kg/h de PYY inhibe significativamente la producción de bicarbonato pancreático estimulado por secretina. En general, las respuestas secretoras de bicarbonato y proteínas a diferentes secretagogos, infundidos intravenosa o intraduodenalmente, se ven reducidas significativamente por la acción de PYY. Sin embargo, la administración intravenosa de atropina no abole la habilidad de PYY

para inhibir la secreción de bicarbonato, lo que demuestra que PYY puede inhibir la secreción pancreática exocrina estimulada por nutrientes, hormonas o vagalmente, pero que el mecanismo de acción parece ser independiente de la inervación colinérgica (Lluis, et al., 1987).

En humanos, la magnitud de la respuesta estimuladora de PYY a la comida depende de la naturaleza y dimensión de la misma (Adrian, et al., 1985). Lo mismo parece ocurrir en perros, en los que diferentes concentraciones de oleato sódico infundidas intraduodenalmente provocan incrementos en la estimulación de PYY directamente relacionados con las mismas (Lluis, et al., 1988). Greeley, et al. (1989) indican un incremento en los niveles plasmáticos de PYY en esta especie animal, en el periodo comprendido entre los 15-30 minutos posteriores a la infusión intraduodenal de ácidos grasos o tras la ingesta de una comida mixta. Estos datos son posteriormente corroborados por Zhang, et al. (1991) que observan el mismo efecto tras estimulación vagal, aunque en este caso el PYY ejerce un papel paracrino (Zhang, et al., 1992).

El estímulo nutricional más potente para la liberación del péptido a plasma es la grasa, como se ha demostrado en perros (Pappas, et al., 1985; Bilski, et al., 1988) y en humanos (Adrian, et al., 1985). La longitud de cadena de los ácidos grasos no parece influir sobre la liberación de PYY, al menos en perro, según describen Aponte, et al. (1985). Sin embargo, Lluis, et al. (1989) describen la necesidad de hidrólisis de los TG para que puedan ejercer su acción estimuladora sobre PYY, cuando esta especie animal es sometida a diversión del jugo pancreático.

Los niveles plasmáticos de PYY observados en humanos sometidos a un periodo de adaptación de 30 días a dietas líquidas con diferente composición en ácidos grasos, parecen indicar una adaptación, en concreto al alto contenido en ácido oleico en la dieta del grupo que ingiere aceite de oliva, lo que sugiere que dicho péptido es el responsable del patrón de respuesta pancreática a la comida observado en este grupo experimental (Yago, et al., 1997).

Investigaciones previas en humanos sugieren una ausencia de efecto del péptido sobre la secreción pancreática exocrina (Adrian, et al., 1985), no habiéndose demostrado la existencia de receptores en las membranas de las células pancreáticas. A esto se le añade la incapacidad del

PYY para inhibir *in vitro* la secreción pancreática en perro y en rata (Bilski, et al., 1988), lo que sugiere que el efecto del péptido sobre la misma es indirecto.

La bilis también parece jugar un papel regulador en este sentido, interviniendo como potenciador de la liberación del péptido estimulada por la grasa de la dieta (Gómez, et al., 1986).

Se ha descrito un papel inhibidor del PYY sobre la CCK liberada tras la administración intraduodenal de grasa (Lluis, et al., 1988; Hosotani, et al., 1989), sin ejercer efecto alguno sobre la secretina liberada en respuesta a dicho estímulo nutricional (Lluis, et al., 1988; Lluis, et al., 1992).

### **5.5.-RESPUESTA PANCREÁTICA A LA COMIDA**

La secreción pancreática estimulada por la ingesta de alimento se considera la función más importante del páncreas exocrino. Esta glándula necesita secretar en poco tiempo gran cantidad de fluido digestivo e hidrolizar las macromoléculas presentes en los alimentos en pequeñas moléculas capaces de ser absorbidas por la mucosa intestinal. Desde 1910, a partir de los estudios llevados a cabo por Paulov, con objeto de estudiar las modificaciones de la actividad enzimática en respuesta a la ingesta de comida, se ha venido estudiando la adaptación del páncreas exocrino a la dieta. Numerosos trabajos de investigación han puesto de manifiesto esta capacidad adaptativa del equipo enzimático, presente tanto en jugo como en tejido pancreático (Bucko and Kopec, 1968; Snook, 1971). Trabajos realizados *in vitro* e *in situ* (Bucko and Zopeck, 1968; Adelson and Rothman, 1974; Felber, et al., 1974; Rothman, 1974; Adelson and Rothman, 1975; Dick and Felber, 1975; Rothman, 1976; Grendell and Rothman, 1981) sugieren asimismo que la regulación adaptativa de la glándula se produce en respuesta a una comida aislada.

De cualquier manera, los productos finales de la digestión (aminoácidos, monosacáridos, ácidos grasos) parecen intervenir como agentes responsables de dichos cambios, actuando de manera directa sobre la célula secretora o indirectamente provocando la liberación de hormonas de la mucosa intestinal (Hopman, 1984; Watanabe, et al., 1984; Green, et al., 1986;

Konturek, et al., 1986; Rhodes, et al., 1988). Este fenómeno varía según las especies, habiéndose estudiado ampliamente en perro, rata, pollo, cerdo, conejo y en menor medida en humanos. No obstante, la magnitud de dicha respuesta no alcanza su máxima capacidad secretora, ni respecto de la secreción enzimática, ni en lo se refiere a la de bicarbonato (Solomon, 1987).

La respuesta secretora tiene lugar a través de modificaciones en el índice de síntesis, que a su vez viene determinado por el nivel de ARNm de los diferentes enzimas constituyentes. Fisiológicamente, el mecanismo adaptativo posiblemente pretenda optimizar la digestión y absorción de los nutrientes, aunque la producción de enzimas generalmente se realiza en exceso. La cantidad y naturaleza de cada uno de los componentes de la dieta ejercen un claro efecto sobre dicho fenómeno. En la actualidad es objeto de estudio el mecanismo inicial por el que estos constituyentes modifican la expresión de los genes responsables de la síntesis enzimática (Castro, et al., 1986; Clarke and Abraham, 1992; Consins, 1999; Klurfeld, 1999; Sanderson and Naik, 2000).

#### **5.5.1.-FASES DE LA SECRECIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA**

El perfil secretor del páncreas exocrino viene descrito por dos periodos:

a.- ***Interdigestivo o basal***, que se produce una vez finalizados los procesos digestivos y absorptivos, esto es, en condiciones basales. Se caracteriza por ser cuantitativamente importante en el conejo y demás hervíboros (no así en la mayoría de especies estudiadas, como perro, gato o humanos).

b.- ***Digestivo o postprandial***, inducido por el alimento, es decir, en condiciones de estimulación, las cuales se pueden llevar a cabo a partir de mecanismos nerviosos (estimulación vagal) u hormonales (secretina y CCK fundamentalmente) y es mantenido durante el periodo de digestión. Esta etapa está constituida por tres fases, fisiológicamente relacionadas entre sí, aunque expuestas con cierto desfase cronológico:



## **FASE CEFÁLICA**

Estímulos como el olor, el sabor, la vista, la masticación o la deglución provocan un aumento de la secreción escasa en bicarbonato y rica en enzimas, respecto de la basal. Esta se producirá en mayor o menor grado, dependiendo de las especies, como se ha citado. Posiblemente, la estimulación sea directa a través del nervio vago o mediada por gastrina y CCK.

## **FASE GÁSTRICA**

Se produce como consecuencia de la entrada del bolo alimenticio al estómago. La secreción puede ser provocada por gastrina, que es liberada a su vez, bien por estimulación vagal (a través de reflejos gastropancreáticos), bien por la distensión del antro tras la llegada de moléculas procedentes de la digestión. En esta etapa, la estimulación pancreática se realiza de forma directa en la glándula, por lo que el contenido en proteínas enzimáticas es más considerable que el de electrolitos (Blair, et al., 1966; Vagne, et al., 1969).

## **FASE INTESTINAL**

Originada por la presencia de un pH ácido en duodeno, a consecuencia de la llegada del quimo, cuya composición influirá en la naturaleza de la secreción pancreática, siendo ésta fundamentalmente rica en bicarbonato, y con una proporción menor de enzimas. El periodo clave de esta fase se produce cuando el contenido digestivo alcanza la porción proximal del intestino delgado, con los niveles de secreción cuantitativamente más importantes, considerando como estímulos previos del páncreas, las dos fases anteriores.

## **ESTIMULADORES DE LA FASE INTESTINAL**

**Ácidos.** El principal estímulo responsable de la secreción pancreática de fluido y bicarbonato es el ácido gástrico. La disminución de pH que se origina con su llegada a duodeno presenta un valor umbral, por encima del cual no se provoca dicha estimulación, y que es

diferente para cada especie, de manera que en perro es de 4.5 (Meyer, et al., 1970), en cerdo de 1.5 (Fahrenkrug, et al., 1977) y en humanos de 2 a 3 (Fahrenkrug, et al., 1978).

La magnitud de la respuesta secretora de fluido a la comida depende de la porción de intestino acidificado por debajo del valor umbral, así como el tipo de ácido presente en duodeno, observando un efecto similar con HCl o con ácidos inorgánicos fuertes como el fosfórico (Meyer, et al., 1970). Sin embargo, algunos ácidos grasos orgánicos débiles como el acético o el láctico, ejercen un menor efecto potencial. Inicialmente se atribuyó este hecho a un menor pKa de estos últimos ácidos, y con ello, a su menor disociación. Estudios posteriores contradijeron este razonamiento, al observar una falta de correlación entre pKa y potencial, así como diferencias en las dos fracciones de la secreción pancreática, según el ácido débil en cuestión (Harada, et al., 1986; Harada and Syuto, 1988), por lo que la razón puede estar más bien en la influencia del entorno intestinal sobre el efecto disociativo.

Si la acidez adquiere valores muy elevados, la secreción de enzimas acompaña a la de bicarbonato, llegando a producirse valores secretores hasta del 50% respecto de los obtenidos por estimulación con CCK exógena (Singer, et al., 1981).

**Proteínas y productos de su digestión.** Potencian asimismo la secreción de fluido pancreático rico en electrolitos por el páncreas exocrino (Fink, et al., 1983). La respuesta secretora varía con las especies, de modo que trabajos realizados en ratas (Schneeman, et al., 1977; Green and Miyasaka, 1983) indican una estimulación secretora por proteína y no por aminoácidos ni péptidos. Por el contrario, tanto en perros como en humanos, la respuesta tiene lugar por la presencia en duodeno de péptidos y aminoácidos, no ocurriendo así con la proteína tal cual (Konturek, et al., 1973). La perfusión intestinal de este grupo de nutrientes estimula la secreción pancreática en perros (Shibata, et al., 1988) y en humanos (Brugge, et al., 1987), mientras que la infusión intravenosa de los mismos no lo hace (Fried, et al., 1982).

En cualquiera de las especies estudiadas, se observa un incremento en los niveles de CCK por estimulación con proteínas, péptidos o aminoácidos (Liddle, et al., 1986; Brugge, et al., 1987; Shibata, et al., 1988). No obstante, la máxima respuesta pancreática a péptidos y

aminoácidos, en perros y en humanos, es inferior a la observada en respuesta a dosis máximas de CCK (Debas and Grossman, 1973).

**Triglicéridos y productos de la digestión de grasas.** La grasa es un potente estimulador de la secreción pancreática exocrina. Meyer and Jones, (1974) observan en el perro una mayor secreción hidroelectrolítica por ácidos grasos y monoglicéridos que con los aminoácidos, siendo su efecto similar sobre la secreción enzimática. Solomon (1987) ponen de manifiesto que la secreción de fluido se ve favorecida por la presencia de ácidos grasos o grasa neutra en duodeno.

Estudios llevados a cabo en perros (Faichney, et al., 1981; Meyer and Jones, 1974) muestran que los ácidos grasos con más de 10 átomos de C son los mejores estimuladores de la secreción pancreática exocrina, destacando el ácido oleico (C18:1 n-9).

El efecto de la presencia de productos de la digestión de la grasa en intestino sobre diversos péptidos gastrointestinales, reguladores de la secreción pancreática, depende de la especie. La mayoría de los resultados apoyan la liberación de secretina plasmática en respuesta al ácido oleico, como muestran diversos estudios en perro (Faichney, et al., 1981; Niebel, et al., 1983; Watanabe, et al., 1986), rata (Tranberg, et al., 1985) y humanos (Rhodes, et al., 1988), mientras no se localizan niveles plasmáticos de dicha hormona en cerdo (Fahrenkrug, et al., 1977). La respuesta en CCK al ácido oleico presenta también variabilidad interespecífica, desligándose la rata, con ausencia de incrementos en este péptido (Liddle, et al., 1986), mientras el perro (Konturek, et al., 1983; Watanabe, et al., 1988; Lluís, et al., 1989) y el hombre (Yago, et al., 1995) si detectan niveles incrementados de CCK. Los niveles de PYY se ven asimismo incrementados en humanos por la presencia de ácidos grasos, y de forma más acusada si éstos son procedentes de aceite de oliva (oleico) (Yago, et al., 1995). El VIP es afectado por la presencia de grasa en duodeno de cerdo y hombre (Schaffalitzky de Muckadell, et al., 1977; Lygren, et al., 1982).

**Carbohidratos y/o oligosacáridos procedentes de su digestión.** Ninguna de estas moléculas parecen tener efecto alguno sobre la estimulación de la secreción pancreática exocrina (Hanssen, et al., 1980) ni sobre la liberación de péptidos hormonales (Schaffalitzky de

Muckadell, et al., 1977; Hanssen, et al., 1980; Liddle, et al., 1986). No obstante, se ha observado un aumento moderado en la secreción enzimática como consecuencia de la ingesta de una dieta líquida a base de glucosa exclusivamente, pero dicho efecto estimulador parece ser debido a la distensión más que al efecto de la glucosa (Ekelund and Johansson, 1975).

**Estado físico de la comida.** El estado físico de la comida también influye en la respuesta secretora del páncreas exocrino, de manera que la mezcla de alimento sólido y líquido en la comida ejerce un efecto más mantenido sobre el perfil secretor de la glándula, que si el aporte de alimento es mediante sonda gástrica y, por lo tanto, homogeneizado (Malagelada, et al., 1979).

#### **5.6.-MODIFICACIONES EN LAS MEMBRANAS PANCREÁTICAS POR EFECTO DE LA DIETA**

Los estudios encontrados acerca del efecto que los componentes de la dieta ejercen sobre las membranas de las células pancreáticas son prácticamente inexistentes. No obstante, algunos trabajos indican cambios en las membranas celulares de los gránulos de zimógeno de ciertas especies animales estudiadas, como consecuencia de la ingesta, los cuales parecen estar relacionados, o al menos concurren paralelos, a modificaciones en componentes asociados a dichas membranas, así como en determinadas actividades enzimáticas ligadas a las mismas. Sin embargo, se observa ausencia de cambios en otras especies.

Con todo ello, son escasos los datos disponibles acerca del aspecto más relevante para nuestro interés, que es conocer si los lípidos que constituyen estas membranas son el reflejo adaptativo de las mismas a la grasa ingerida en la dieta y si, en definitiva, ésta juegan un papel fisiológico en dichas membranas.

Los gránulos de zimógeno aislados de páncreas de rata liberan enzimas digestivas en respuesta a una concentración disminuida de las mismas en el medio. Se ha puesto de manifiesto que ciertos productos de la digestión (aminoácidos y formas fosforiladas de glucosa) ejercen una acción directa sobre estos gránulos de zimógeno, provocando la liberación selectiva de

enzimas implicadas en su obtención a partir de sustratos poliméricos (Niederau, et al., 1986). La evidencia sugiere que la distribución de dichas enzimas entre el gránulo y el medio es el resultado de un proceso en equilibrio. En 1976, Liebow and Rothman propusieron que las enzimas digestivas pasaban a través de la membrana granular intacta por un mecanismo bidireccional, y que existía un pool citoplasmático de enzimas en la célula intacta, en equilibrio con el contenido del gránulo de zimógeno.

Por otra parte, tras el aislamiento de una fracción de gránulo de zimógeno de páncreas de rata, y una vez medida su pureza por criterios bioquímicos y morfológicos, se observa que las actividades específicas de amilasa y quimiotripsina incrementan del orden de 4.6 y 5.2 veces respectivamente, al compararse con el homogenado. Paralelamente, se localizan diferentes e importantes actividades enzimáticas ligadas a la membrana, como tiamina pirofosfatasa, ATP-difosfohidrolasa y bajos niveles de ácido-fosfatasa. Estos resultados pueden indicar que las modificaciones a nivel de membrana, por ejemplo en determinadas actividades enzimáticas ligadas a ella, juegan un papel importante en la función secretora del páncreas exocrino (Paquet, et al., 1982).

Aughsteen and Cope (1987) indican que la ingesta de alimento causa un descenso de los gránulos mayores preferentemente, los cuales van siendo reemplazados durante la secreción, en células acinares de rata. Asimismo, la caracterización de los gránulos de zimógeno pancreáticos en esta especie animal por microscopía electrónica durante los 90 minutos siguientes a la ingesta muestra una disminución en el número ( $29 \pm 2$  por sección celular) y tamaño (55%) de los mismos, apoyando la hipótesis original de que los gránulos individuales descienden su tamaño en respuesta a la comida. Se ha sugerido que dichos cambios reflejan la disminución en el transporte de proteínas a través de la membrana del gránulo de zimógeno, tal y como propone la hipótesis de equilibrio para la secreción de enzimas digestivos (Ermak and Rothman, 1981).

Estudios realizados acerca de la influencia de la ingesta sobre la ultraestructura de las células del páncreas exocrino en ranas muestran ausencia de diferencias significativas respecto al estado de ayuno, en cuanto a la cantidad de membrana que constituye el retículo endoplasmático rugoso (RER), a partir del cual se originan los gránulos de zimógeno. No obstante, sí se observan modificaciones en la síntesis proteica, del orden de 5-10 veces mayor

tras la ingesta (van Venrooij and Poort, 1971). Además, los signos de exocitosis observados en el estado postprandial son más evidentes que en ayunas, disminuyendo el número de gránulos secretores por célula a la mitad. Estos datos sugieren que las fluctuaciones observadas en la producción de proteínas secretoras no vayan acompañadas de degradación y renovación de las membranas celulares, lo que podría favorecer una respuesta rápida de la célula pancreática exocrina a la comida en este modelo animal (Slot and Geuze, 1979).

Se ha podido observar que los gránulos secretores del páncreas de rata poseen un mecanismo de transporte transmembrana de electrolitos que puede contribuir a la producción de fluido exocrino. En concreto, el transporte de  $\text{Cl}^-$  responde a alteraciones en el ambiente lipídico de la membrana granular, ejerciendo la fosfolipasa  $\text{A}_2$  ( $\text{FLA}_2$ ) exógena, un papel en el control del transporte de electrolitos durante el fenómeno de acoplamiento estímulo-secreción, mediante la estimulación de dicho transporte (193%). Asimismo, los productos de la hidrólisis de dicha enzima (lisofosfolípidos y ácidos grasos no esterificados) incrementan directamente el grado de transporte electrolítico. Los resultados apoyan la teoría de que el incremento en la estimulación del citado transporte, regulado por los ácidos grasos, depende de la longitud de cadena y, en menor medida, del grado de insaturación de los mismos (Gasser and Holda, 1994).

Un trabajo de gran interés para nosotros es el que llevaron a cabo Begin, et al. (1990). Los autores estudiaron la influencia de la ingesta de PUFA n-3 y n-6 sobre la composición de ácidos grasos en gránulos de zimógeno de páncreas procedentes de ratas alimentadas con un 5% de diferentes aceites (pescado (n-3), girasol (n-6) y prímula (n-6)), administrados solos o mezclados (girasol/pescado, prímula/pescado) durante seis semanas. Los resultados se compararon con otro grupo alimentado con la misma proporción (5%) de grasa animal, procedente de sebo de vacuno hidrogenado (SFA). Las diferencias encontradas en los perfiles de ácidos grasos pancreáticos fueron relacionadas con la composición de ácidos grasos de las dietas ingeridas, de modo que, los animales alimentados con aceite de pescado y de prímula, solos o en combinación, mostraron niveles similares de ácidos grasos n-3 y C20:3 (n-6). Con la ingesta de girasol/pescado se observaron resultados semejantes. La relación C20:3 (n-3)/C20:4 (n-6) fue superior con las mezclas de aceites. Cuando el aceite de pescado sustituyó completamente al aceite vegetal, las proporciones de MUFA y de todos los PUFA (n-3)

incrementaron a expensas de los PUFA (n-6), especialmente C18:2 (n-6) y C22:4 (n-6). El perfil de ácidos grasos pancreáticos de los animales alimentados con la grasa animal, parcialmente hidrogenada, se aproximó al encontrado en el grupo de animales alimentados con aceite de pescado rico en PUFA, excepto para las proporciones de C20:3 (n-6) y de ácidos grasos n-3 (no de C22:6 n-3), que incrementaron con aceite de pescado más que con la grasa animal. Los resultados indican diferencias en los perfiles de ácidos grasos pancreáticos relacionadas con la composición de ácidos grasos de la grasa ingerida, lo que demuestra que las membranas plasmáticas de las células pancreáticas de rata se adaptan a la composición de la dieta.

### **5.7.-CAMBIOS EN EL CONTENIDO EN ENZIMAS**

El estudio citado en el apartado anterior, realizado en ratas por Begin, M.E., et al. (1990), también proporciona resultados interesantes en lo que respecta al contenido enzimático, encontrando diferencias significativas en el mismo, asociadas al tipo de grasa ingerida. Así, el aumento en los niveles de amilasa se correlacionan directamente con la ingesta de aceite de primula, a la vez que descienden los de proteasas séricas. Los niveles de procarboxipeptidasa se elevan paralelamente al incremento en los niveles de C18:0, mientras la proporción de lipasa cambia inversamente a la de C20:3 n-6. Las proporciones de proelastasa y proteasa II se elevan con la mezcla girasol/pescado. Estos resultados sugieren que los ácidos grasos específicos de la dieta influyen en la proporción de enzimas digestivos específicos de los gránulos de zimógeno, lo que significaría que, en la rata, la composición enzimática del páncreas depende de la grasa ingerida, indicando una vez más la capacidad adaptativa de la glándula pancreática a la dieta.

A la luz de los datos aportados por estos autores, cabe plantearse la posibilidad de que el mecanismo de adaptación pancreática a la calidad de grasa ingerida en la dieta pueda estar ocasionado por cambios en la composición de ácidos grasos de la membrana plasmática de la célula acinar, lo que justificaría nuestra hipótesis acerca de una relación composición-función de membrana, que sería la responsable de modificaciones en la actividad secretora del páncreas exocrino en respuesta al tipo de grasa dietética.

### **5.8.-ADAPTACIÓN PANCREÁTICA A LA COMPOSICIÓN DE LA DIETA**

Son numerosos los trabajos publicados que ponen de manifiesto la capacidad adaptativa del páncreas exocrino a la composición de la dieta. Dicha adaptación varía en las distintas especies estudiadas: rata (Hara, et al.; 1995; Justice, et al, 1989; Sabb, et al., 1986; Snook, et al., 1971; Wicker, et al., 1987; Wicker, et al., 1990), perro (Ballesta, et al., 1990; Mañas, et al., 1996; Yago, et al., 1997 (a)) o cerdo (Low, 1982; Partridge, et al., 1982; Simoes-Nunes, 1985), entre otros, siendo más escasa la literatura acerca de dicho mecanismo en humanos (Emde, et al., 1985; Boivin, et al., 1990; Yago, et al., 1997(b)).

Las proporciones de las diferentes enzimas digestivas del jugo pancreático no están constitutivamente programadas, sino que tanto los tratamientos hormonales como las manipulaciones a través de la dieta, inducen cambios importantes en las actividades específicas de las proteínas enzimáticas más relevantes (Wormsley and Goldberg, 1972). Uno de estos mecanismos reguladores, conocido como “adaptación pancreática a la dieta” y que apunta hacia una optimización de la digestión, fue descrito por Paulov (1898). Desde entonces, y como hemos citado en el capítulo correspondiente a la respuesta del páncreas exocrino a la comida, existe abundante y firme documentación acerca de los cambios provocados en el páncreas exocrino, seguidos de alteraciones a corto plazo del contenido en proteínas, carbohidratos y grasas de la dieta (Reboud et al., 1962; Christophe et al., 1971; Dagorn and Lahaie, 1981; Deschodt-Lanckman, et al. 1971; Snook, 1971; Gidez, 1973). Según Sommer and Kasper (1981), la adaptación pancreática a la comida es debida más bien a los cambios en el propio órgano que a una estimulación hormonal alterada.

Robberecht, et al. (1971) indican que, en términos generales, dentro de un periodo de dos días de incrementos en la cantidad de un determinado sustrato ingerido, la actividad de enzimas pancreáticos requeridos para su digestión también aumenta. Estos autores demuestran que un incremento o descenso en la abundancia de un determinado componente de la dieta (proteína, carbohidrato o grasa) induce, respectivamente, un aumento o disminución paralela y proporcional en la cantidad de sus correspondientes enzimas, que son secretados. En ratas conscientes, la perfusión intraduodenal de almidón causa principalmente un incremento en la



secreción de amilasa, el aceite de soja lo hace en la de lipasa y los aminoácidos en la secreción de proteasas. No obstante, la ingesta de dietas altas en proteína incrementa las actividades de lipasa, así como de enzimas proteolíticas, y una dieta rica en lípidos aumenta las actividades de tripsina y quimiotripsina, junto a la de lipasa pancreática (Snook, 1971).

Existe cierta controversia acerca de la magnitud del cambio en la actividad de una enzima tras la modificación de la cantidad de su correspondiente sustrato en la dieta, y más aún, en lo que respecta al comportamiento de otras enzimas no implicadas en la digestión de dicho sustrato (Yago, et al., 2000). El significado fisiológico de la adaptación pancreática a la dieta debería ser, como se cita anteriormente, el de optimizar la digestión y utilización de su sustrato, pero el páncreas exocrino normalmente sintetiza un exceso de enzimas digestivos. Conviene recordar que la función económica del páncreas exocrino está basada en la síntesis, transporte y secreción no paralela de enzimas pancreáticas durante el estado basal y postprandial y que la capacidad de reserva de las células acinares también se ve incrementada por la adaptación a la dieta (Pap and Marosi, 1992).

Brannon (1990) observa en ratas aumentos del 70 y del 50% en la síntesis de quimiotripsinógeno y tripsinógeno respectivamente tras 24 horas de administración de una dieta alta en proteínas, a la vez que descienden los niveles de síntesis de amilasa en un 25%. Cuando la dieta es modificada a favor de carbohidratos, la síntesis de amilasa se ve incrementada en un 15% a las 24 horas de la ingesta, continuando su incremento (200%) hasta el tercer día, mientras la síntesis de quimiotripsinógeno y tripsinógeno desciende hasta un 25% y continúa hasta el 5º día (50%). La ingesta de una dieta alta en grasa ocasiona, transcurridas esas 24 horas, un incremento en la síntesis de lipasa del 36%, continuando su incremento durante 5 días más hasta un 217%; la síntesis de amilasa desciende hasta un 17% y continúa disminuyendo (61%) hasta el 5º día (100%).

En sujetos alimentados con una dieta alta en proteína, se han observado aumentos significativos en la actividad quimiotrípica y mayores que en la de tripsina (Bucko, et al., 1982). Este incremento en los niveles de quimiotripsina con dietas altas en proteína es observado también en ratas por Bourdel (1983).

Ahora bien, el patrón de adaptación a las proteínas de la dieta se ve modificado con dietas libres de proteínas o de nitrógeno, al observar siempre un descenso en el porcentaje de proteasas, amilasa y lipasa. No obstante, el grado de cambio varía según las especies, de manera que en ratas, la ausencia de nitrógeno en la dieta reduce el contenido de quimiotripsinógeno en un 75%, de tripsinógeno en un 50% y de amilasa en un 72%. La misma dieta provoca en cerdos un descenso en el nivel de quimiotripsinógeno de un 30%, pero no de tripsinógeno, de amilasa en un 35% y de lipasa en un 23% (Brannon, 1990).

Así pues, el patrón adaptativo se muestra diferente si los cambios en el aporte de la dieta son a expensas de proteína o de carbohidratos, de modo que las dietas hipoproteicas inducen síntesis proporcionalmente inversas al porcentaje de sus correspondientes sustratos (Schick, et al., 1984). Lo mismo se observa cuando se trata de una dieta proteopriva, con el posible objetivo de proporcionar un aporte de proteasas para hidrolizar las proteínas que posteriormente lleguen al espacio luminal (Dakka, et al., 1988).

Por otra parte, se ha constatado que la calidad de la proteína ingerida afecta a la adaptación pancreática. La proteína de alta calidad incrementa la proporción de quimiotripsinógeno, no ocurriendo así con otras de baja calidad. De hecho, un requerimiento fundamental para la adaptación pancreática es la disponibilidad suficiente de aminoácidos esenciales. Los oligopéptidos procedentes de proteínas hidrolizadas afectan al contenido y síntesis de proteasas pancreáticas del mismo modo que las proteínas intactas en la rata, no ocurriendo así para los aminoácidos (Brannon, 1990).

En cerdos alimentados con distintas fuentes proteicas, la secreción de enzimas pancreáticas es sensible a la naturaleza o tipo de proteína ingerida (Valette, et al., 1992). Le-Drean, et al. (1995) observan en ternero una ligera influencia de la calidad de proteína empleada sobre las actividades proteolíticas, así como sobre los niveles de sus ARNm específicos.

La cantidad de carbohidratos afecta también al contenido de su correspondiente enzima digestiva, la amilasa pancreática, siempre y cuando el contenido de proteína de la dieta sea el adecuado. Así, se han encontrado aumentos en el contenido de dicha enzima del 50-500% en ratas cuando el contenido en carbohidratos de sus dietas se eleva hasta un 65-73%, observando

la máxima respuesta de amilasa cuando el aporte de este nutriente es del 58-71% (Brannon, 1990). Los niveles de ARNm de amilasa incrementan en ratas de forma paralela al contenido de esta enzima, cuando ingieren dietas con niveles altos (75%), intermedios (20%) o bajos (11%) en carbohidratos, lo que indica que: (a) las modificaciones producidas en la composición de la dieta alteran la expresión de genes que codifican para la síntesis de amilasa, como consecuencia de cambios en el nivel de su transcrito, y (b) que la producción de amilasa pancreática es mayoritariamente regulada a nivel pre-traducciona (Giorgi, et al., 1984).

En cerdos alimentados durante periodos de 7 y 30 días con dietas altas en carbohidratos se observa un aumento en la actividad específica de amilasa, con un patrón adaptativo similar al encontrado en ratas (Flores, et al., 1988). Justice, et al. (1989) aportan resultados semejantes en cultivos acinares de rata, tras 7 días de ingesta elevada de carbohidratos.

Estudios recientes indican que la ingesta de una dieta rica en energía y carbohidratos provoca una tendencia al incremento en el contenido y actividad de la amilasa pancreática en corderos, aunque el ARNm de la misma tiende a disminuir. Los datos parecen indicar que la regulación de la expresión de la misma en rumiantes es compleja y probablemente esté controlada por eventos transcripcionales y postranscripcionales (Swanson, et al., 2000). Los resultados obtenidos previamente por nuestro laboratorio parecen confirmar una regulación nutricional de la actividad de la amilasa pancreática, que depende de la cantidad de su correspondiente sustrato en la dieta, similar a lo descrito en no rumiantes (Lopez-Palomo, et al., 1997).

Curiosamente, un estudio realizado en humanos pone de manifiesto que la mayor secreción de amilasa se produce con ingestas elevadas de grasa (40%), más que de carbohidratos (50-80%) (Boivin, et al., 1990). Liehr, et al. (1989) demuestran una ausencia de adaptación a corto plazo en humanos, tras la ingesta de una dieta con un 60% en carbohidratos durante 7 días y de un 76% durante otros 7 días más, de modo que no se observan cambios significativos en el grado de secreción de amilasa.

El tipo de carbohidratos (polisacáridos, disacáridos y monosacáridos) también afecta a los niveles de amilasa pancreática. En ratas, el almidón y la glucosa aumentan el contenido de

amilasa de forma similar, mientras que la sacarosa y la fructosa lo hacen en menor grado que el almidón. La lactosa y la galactosa no ejercen efecto (Brannon, 1990). El cerdo muestra también adaptación pancreática a corto plazo en respuesta a la glucosa y a la maltosa, cuando se administran vía oral (Nunes and Corring, 1979), aunque no se observa lo mismo cuando la glucosa es administrada endovenosamente (Simoes Nunes and Corring, 1981).

La ingesta de fibra provoca un incremento en el volumen de jugo pancreático secretado, así como en el contenido y actividad de amilasa, con descensos paralelos en los de lipasa pancreática en cerdo (Corring, et al., 1986), rata (Sommer and Kasper, 1984), perro (Stock-Damge, et al., 1983) y humanos (Dutta and Hlasko, 1985; Hendrick, et al., 1992; Mosenthin and Sauer, 1993).

#### ***5.8.1.-CINÉTICA DE ADAPTACIÓN PANCREÁTICA***

Como se ha mencionado, los constituyentes de la dieta activan mecanismos neuronales específicos y liberación de péptidos gastrointestinales que operan sobre la síntesis y secreción de enzimas pancreáticas. La cinética de esta adaptación del páncreas exocrino parece seguir una tendencia exponencial, de modo que, el periodo comprendido entre “estimulación” y “respuesta” en la secreción de dichas enzimas, es de tan sólo unas pocas horas, y tras una primera fase de cambio rápido en la secreción durante las primeras 5 horas, el incremento posterior resulta más suave hasta conseguir estabilizarse después de 18-22 horas. Estos datos aportan una descripción formal de adaptación pancreática a corto plazo frente a estímulos nutricionales, sin clarificar los mecanismos implicados en ella (Bozkurt and Haberich, 1985). Lo que sí parece estar claro es que la magnitud del cambio adaptativo es similar cuando ésta se expresa como actividad enzimática por páncreas, gramo de páncreas o miligramo de proteína total pancreática.

Los estudios de adaptación del páncreas a la dieta se han venido centrando en los efectos de la cantidad y naturaleza de los componentes principales presentes en ella, siendo más desconocidos los mecanismos por los que estos nutrientes modifican la expresión de los genes que codifican la síntesis de enzimas pancreáticas, así como la de mediadores hormonales y

nutricionales de dicha adaptación. Esta expresión puede verse alterada, teóricamente, bien a nivel del gen, esto es, de transcripción, bien en su ARNm (procesamiento, transporte extranuclear o estabilidad citoplasmática) (Giorgi, et al., 1985; Justice, et al., 1989; Wicker, et al., 1988) o a nivel de su traducción a proteína. A pesar de que la mayoría de los estudios apoyan un mecanismo pretraduccional (Dakka, et al., 1988; Wicker and Puigserver, 1990; Brannon, 1990), no se descarta la posibilidad de un control traduccional (Yago, et al., 2000).

Los cambios observados en el contenido de enzimas pancreáticas en la rata, dentro de las 24 horas posteriores a la modificación en la dieta, indican una adaptación pancreática rápida, que se mantiene durante 5-7 días más hasta alcanzar un estado estable. Asimismo, se observan cambios en el grado de síntesis de dichos enzimas en las primeras horas posteriores a las modificaciones en la dieta, prolongándose, aunque en menor grado, de 3-9 días más hasta estabilizarse (Lahaie, et al., 1981; Wicker, et al., 1989). No obstante, el fenómeno de adaptación rápida a la composición de la dieta se ha demostrado que sólo existe en ratas (Deschodt-Lanckman, et al., 1971; Wicker, et al., 1988; Puigserver, et al., 1985). Los estudios realizados con perros en nuestro laboratorio, tras someterlos a dietas altas en carbohidratos o en grasas durante 8 días, no muestran diferencias significativas en el jugo pancreático secretado, ni tampoco en la actividad/producción enzimática, ni durante el ayuno, ni en el periodo postprandial (Mañas, et al., 1996). De todos modos, esto no significa que no exista adaptación pancreática a la composición de la dieta en esta especie a largo plazo, como también hemos demostrado anteriormente (Ballesta, et al., 1990).

Las modificaciones observadas en la secreción pancreática de ratas, tras 6 meses de ingestas altas en proteína o en grasa, son similares a las encontradas en estudios a corto plazo, lo que apunta que la adaptación se mantiene a largo plazo. Entre los 6 y 9 meses, tanto el volumen como la actividad de amilasa descienden en el grupo alimentado con la dieta alta en proteína. Las dietas altas en carbohidratos incrementan las cantidades de amilasa y disminuyen las de tripsina, en homogenados y en secreciones, de manera similar a como lo hacen en estudios a corto plazo. Por otra parte, la actividad lipásica en las secreciones pancreáticas disminuye con la ingesta elevada de carbohidratos, pero se ve incrementada en homogenados, encontrando niveles semejantes a los observados tras la ingesta a corto plazo (Houghton, et al., 1983).

En general, las diferencias observadas en las cinéticas de adaptación a dietas altas en carbohidratos o en proteínas (20 y 60% respectivamente) sugieren mecanismos distintos implicados en la regulación de la síntesis de proteínas enzimáticas (Lahaie and Dagorn, 1981).

### **5.8.2.-ADAPTACIÓN PANCREÁTICA A LA GRASA DE LA DIETA**

La cantidad y el tipo de triglicéridos de la dieta regulan la lipasa pancreática, sin estar totalmente establecido el mecanismo responsable de dicha regulación. Está establecido que la ingesta de dietas elevadas en grasa, siempre que éstas sean normoproteicas, estimula tanto el contenido (Deschodt-Lanckman, et al., 1971; Snook, 1971; Bazin and Lavau, 1979; Sabb, et al., 1986; Wicker and Puigserver, 1987) como la síntesis (Wicker and Puigserver, 1987) de lipasa pancreática, independientemente de que la cantidad de grasa aportada sea a expensas de proteínas (Deschodt-Lanckman, et al., 1971) o de carbohidratos (Sabb, et al., 1986; Simoes-Nunes, 1985). Todo parece indicar una modulación pre-traducciona, pues los aumentos en el contenido en grasa de la dieta, bien sea saturada (manteca de cerdo) o insaturada (aceite de girasol), provoca cambios paralelos en los niveles de ARNm de los genes rPL-1 y rPL-3, que codifican para la lipasa pancreática. El tipo de grasa, sin embargo, puede regular esta enzima a otros niveles, bien traducciona o post-traducciona, ya que el incremento del 212% observado en los niveles de ARNm de rPL-3, en ratas alimentadas con cantidades moderadas, respecto de las que ingirieron bajos niveles de grasa saturada, no ocasiona incrementos en la actividad lipasa pancreática (Ricketts and Brannon, 1994).

La sustitución de un 15% de almidón por un 15% de aceite de cáñola en la dieta disminuye significativamente la secreción de la amilasa e incrementa la de la lipasa pancreática. Cuando se incluye una grasa oxidada en esta dieta, se produce un aumento adicional en la actividad total de la lipasa. Estos resultados apoyan la idea de que la célula acinar es capaz de adaptarse a variaciones no sólo en el nivel, sino también en el tipo de lípidos aportados en la dieta (Ozimek, et al., 1995).

## **ADAPTACIÓN A LA CANTIDAD DE GRASA**

El aporte de dietas isocalóricas e isoproteicas durante 10 días, pero con distintos niveles de grasa: 7.5 (grupo control), 25, 62 y 74% (grupos experimentales), a expensas de cambios inversos en las cantidades de carbohidratos, ocasiona modificaciones paralelas en los niveles de ARNm de lipasa y amilasa, en ratas, que se ven correlacionados con los niveles de actividad de las citadas enzimas, de modo que se muestra un mecanismo adaptativo del páncreas al contenido en grasa de la dieta mediante modificaciones en los niveles de ARNm de lipasa. Esto indica que el grado de síntesis de proteínas específicas refleja más acentuadamente los estados adaptativos pancreáticos que los niveles tisulares enzimáticos (Wicker, et al., 1988).

Estudios posteriores ponen de manifiesto que las dietas hiperlipídicas estimulan tanto la síntesis como la actividad lipasa, pero ejercen un efecto de demora de la síntesis de procarboxipeptidasa y proteasa sérica. De manera similar, la inducción inmediata de ARNm para la lipasa pancreática por la grasa de la dieta, seguido por otro incremento unos días después, sugiere que al menos son dos los mecanismos implicados en la inducción de ARNm para esta enzima (Wicker and Puigserver, 1989).

Las medidas del grado de transcripción para la lipasa, realizadas sobre el núcleo aislado de tejido pancreático en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa, indican que la concentración inicial de la enzima transcrita se correlaciona con una regulación transcripcional de la expresión del gen correspondiente que la codifica (Wicker and Puigserver, 1990).

Haberich and Bozkurt (1984) describen aumentos lineales de la actividad lipásica en ratas con aportes crecientes de grasa en la dieta (0-38%). Kuznetsova, et al. (1991) muestran incrementos en el nivel de secreción pancreática y en el de actividad lipásica, con una dieta hiperlipémica (59% de grasa), mientras que las actividades de la amilasa y de las proteasas disminuyen. Hirschi, et al. (1991) encuentran que la actividad lipásica es significativamente superior en células pancreáticas de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa, a las 24 y a las 48 horas.

Spannagel, et al. (1996) demuestran que la rata se adapta a un aumento en el contenido de grasa de la dieta, con aumentos en la respuesta secretora pancreática a la grasa intraduodenal y en la actividad lipolítica en intestino delgado, paralelos a los aumentos en la liberación de CCK. La secreción pancreática exocrina en respuesta a un 20% de grasa es significativamente superior que la respuesta secretora observada en ratas que ingieren un contenido menor de grasa alimentaria (5%), es decir, el incremento se observa lineal.

Sin embargo, otro estudio realizado en ratas neonatas, en el que la cantidad de grasa varía entre un 11 y un 75%, demuestra que el incremento en la actividad enzimática no ocurre de manera lineal, ya que por debajo del 47% de grasa no se observa estimulación en la actividad lipásica, mientras que la ingesta de un 54 o 67% de grasa provoca valores máximos de la misma, lo que sugiere que, a pesar de que esta enzima se adapta a niveles crecientes de grasa en la dieta, puede existir un valor límite o umbral de la misma, por debajo del cual la adaptación es pequeña, y por encima del que se manifiesta significativa (Sabb, et al., 1986). Diversas investigaciones apoyan este hecho, aunque los resultados son difíciles de comparar, debido en unos casos, al empleo de fuentes grasas diferentes y en otros, a que las dietas no son isocalóricas (Saraux, et al., 1982; Wicker and Puigserver, 1987).

Por otro lado, los estudios llevados a cabo en ratas alimentadas durante 2 meses con dietas ricas en grasa (20%), procedente de TG o de FL, muestran incrementos respectivos en las actividades lipásica y fosfolipásica A2, tanto en tejido como en jugo pancreático; sin embargo, las citadas enzimas muestran los menores valores de actividad con un aporte de grasa mayor (40%), transcurridos 7 días de administración de la dieta (Belleville, et al., 1978).

Brannon (1990) indican que el contenido en lipasa se ve incrementado entre un 170-800% en ratas, con dietas que aportan entre un 41-75% de grasa. Parecer ser que la adaptación de la lipasa al incremento en los niveles de grasa de la dieta puede determinar en esta especie animal una medida del contenido en grasa de la misma, marcando una pequeña adaptación en lo que respecta a su incremento, y una adaptación significativa su descenso.



El aporte un 12% de grasa durante 2 semanas ocasiona en conejos un incremento de la actividad de la lipasa pancreática, sin observar diferencias en la misma con aportes del 2.7% o del 6% de grasa (Borel, et al., 1991). Por el contrario, un aporte cuantitativamente similar de grasa en humanos (10%), considerado bajo, y elevado en carbohidratos (76%), durante un periodo de 10 días, no ocasiona cambios en los grados de secreción de lipasa y de amilasa pancreáticas, aunque sí se observan incrementos en la secreción de tripsina y quimiotripsina (Emde, et al., 1985).

Los resultados obtenidos en perros adultos, alimentados con dietas elevadas en grasa durante un periodo de 8 días, no muestran diferencias significativas en los parámetros medidos en relación a la secreción pancreática exocrina (actividades y producción de amilasa y lipasa, flujo y contenido proteico), respecto de otro grupo experimental que ingiere un alto contenido de carbohidratos en su dieta. Los datos indican ausencia de adaptación rápida del páncreas a la cantidad de grasa de la dieta a corto plazo. No obstante, no se descarta un mecanismo adaptativo en el perro a largo plazo (Mañas, et al., 1996).

Ozimek, et al. (1995) demuestran la capacidad del páncreas exocrino porcino para adaptarse a variaciones en el contenido lipídico de la dieta, tras someter a cerdos en periodo de crecimiento a dietas isocalóricas e isoproteicas, con distintos niveles de aceite de cáñola como fuente grasa, observando incrementos en la actividad lipasa.

Como se ha mencionado, la lipasa requiere para su acción la actuación de la colipasa, que interviene como cofactor. Las regiones de homología y conservación entre ambas moléculas pueden ayudar a definir los sitios de interacción (Colwell, et al., 1993). Se ha demostrado que la colipasa se une a un fragmento de lipasa de 5 kDa, identificado como el extremo C-terminal del extremo de la cadena, que va desde el residuo 403 hasta el mismo (Cys 449) y el sitio de unión está localizado en un área de contacto restringida. En todas las especies estudiadas, aparece implicado el residuo Glu 440 (Chaillan, et al., 1992).

Diversos trabajos muestran una adaptación de colipasa pancreática a niveles crecientes de grasa en la dieta (Saraux, et al., 1982; Wicker and Puigserver, 1987), pero la respuesta parece ser más débil que en el caso de la lipasa (Wicker and Puigserver, 1987). Estudios posteriores

ponen de manifiesto una específica, aunque moderada inducción de ARNm de colipasa por manipulación nutricional, en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa (Wicker and Puigserver, 1990). Cuando estos animales son alimentados con dietas con alto contenido en proteínas, incluso cuando éstas son pobres en lípidos (2% de manteca de cerdo), la colipasa muestra una respuesta a la ingesta proteica, indicando ser particularmente sensible a dicho nutriente, quizá más que a la ingesta de grasa (Ouagued, et al., 1980).

#### **ADAPTACIÓN AL TIPO DE GRASA DE LA DIETA: ASPECTOS CUALITATIVOS.**

En contraste con el consenso existente sobre el papel de la cantidad de la grasa, existe cierta controversia acerca del efecto del tipo o calidad de la misma aportada en la dieta, esto es, de su longitud de cadena y grado de insaturación, sobre la adaptación pancreática, determinada por el contenido y síntesis de lipasa. Deschodt-Lanckman, et al. (1971) observan en ratas una respuesta doble de lipasa ante la grasa insaturada ingerida que con la saturada, aunque ambos tipos de ácidos grasos incrementan el contenido de lipasa, cuando el contenido de los mismos en la dieta es alto, respecto de una dieta con niveles bajos de grasa. Estos autores indican asimismo una reducción en la actividad amilásica con cualquiera de las dietas empleadas, todas ellas altas en grasa (0% de carbohidratos), encontrando valores mínimos de dicha actividad en el grupo alimentado con una dieta enriquecida en aceite de oliva. También observan diferencias en los niveles de proteasas, según la fuente grasa empleada, aunque Ricketts and Brannon (1994) no corroboran este hecho en estudios posteriores en ratas, pues indican que la actividad proteásica es similar en cualquiera de los grupos de animales adaptados a dietas con grasas de diferentes grados de saturación.

#### ***EFFECTO DE LA LONGITUD DE CADENA DE LOS ÁCIDOS GRASOS***

Los datos disponibles acerca del papel modulador que la longitud de cadena de los ácidos grasos aportados en la dieta ejerce sobre la adaptación del páncreas exocrino varían según la especie considerada, resultando en ocasiones contradictorios para una misma especie.

Demol and Sarles (1978) indican un efecto potenciador sobre la secreción pancreática para la longitud de cadena, comparable al ejercido por CCK-PZ, de modo que el ácido oleico (C18:1 n-9) posee un efecto mayor, moderado el caprílico (C8:0) y ausencia del mismo el butírico (C4:0).

La administración de pequeñas cantidades de TG (2.5 ml) procedentes de diversas fuentes, cuya única diferencia radica en la longitud de cadena de sus ácidos grasos (aceite de maíz, sebo de buey, aceite de pescado o aceite con TCM) incrementan significativamente los niveles de CCK en rata, respecto de la administración de suero salino, con el consiguiente efecto sobre la secreción pancreática exocrina. Las cuatro fuentes grasas provocan una liberación significativa de CCK, siendo el aceite con TCM el más potente estimulador de la secreción de CCK (Douglas, et al., 1990).

En pollos alimentados con diferentes tipos de TG, según la longitud de cadena de sus ácidos grasos (TCL en aceite de maíz; TCM en glicerol tricaprato y ácidos grasos de cadena corta mediante glicerol tricaprilato), a razón de 200g/kg dieta, se observan concentraciones de CCK significativamente menores para el grupo que ingireren TCL, respecto de TCM. Estos datos indican que los TCM son estimuladores más potentes de la secreción de CCK que TCL en estos animales (Mabayó, et al., 1992). Estudios más recientes corroboran estos resultados e indican, además, que los TCL no son capaces de estimular la secreción de gastrina (Furuse, 1999).

Por el contrario, la infusión de TCM provoca en cerdos un cambio, respecto del grupo control, en el volumen de secreción de jugo pancreático, así como en la producción proteica, contenido y producción de lipasa, y en la producción de tripsina y colipasa pancreáticas, manifestándose diferencias entre TCM y TCL para las producciones de proteína, lipasa y colipasa. En concreto, los niveles plasmáticos de CCK resultan menores con el aporte de TCM que con TCL, lo que sugiere una inmediata y distinta respuesta del páncreas exocrino a grasas que difieren en la longitud de cadena (Jacob, et al., 2000).

Del mismo modo, la ingestión de TCL induce en el hombre un incremento significativo en los niveles de CCK plasmática de  $2.8 \pm 0.5$  a  $6.5 \pm 0.7$  pmol/l y descensos también

significativos en el volumen de bilis en la vesícula biliar desde  $33.4 \pm 5.9$  hasta  $13.2 \pm 4.2$  cm<sup>3</sup>. Sin embargo, no se encuentran diferencias significativas en los niveles de CCK plasmática ni en el volumen de contenido vesicular tras la ingesta de TCM, lo que indica que, al contrario que ocurre con los TCL, los TCM no inducen liberación de CCK ni contracción de la vesícula biliar (Hopman, et al., 1984). Isaacs, et al. (1987) observan en sujetos sanos que la CCK plasmática incrementa sus niveles tras la ingesta de TCM, sin verse afectados otros péptidos como gastrina, motilina, PP y GIP. La ingesta de TCL estimula tanto la contracción de la vesícula biliar, como el incremento en los niveles de los citados péptidos.

Vu, et al. (1999) indican que los TCM intraduodenales aceleran el tránsito intestinal, pero no estimulan la liberación de CCK, aunque sí la de hormonas gastrointestinales distales (PYY), en un grupo de voluntarios sanos, lo que sugiere que dicho tipo de grasa no es absorbida rápidamente en intestino proximal, pero probablemente alcance la región ileocolónica y estimule la liberación de PYY.

Estudios de Maas, et al. (1996) en humanos demuestran que los TCM inhiben la secreción de ácido gástrico, aunque en menor grado que los TCL; la infusión de altas concentraciones de CCK no suprime esta secreción ácida, por lo que se demuestra una ausencia de responsabilidad atribuible a la CCK en este sentido.

La administración de fórmulas enriquecidas en ácidos grasos de cadena larga (fórmula experimental) provoca un aumento significativo de la actividad lipásica, en el aspirado duodenal recogido de infantes pretérmino, frente a otra fórmula estándar, sin mostrar cambios respecto del grupo que ingiere leche materna. Esto sugiere que la composición de la grasa alimentaria influye en el desarrollo postnatal de la actividad de la lipasa duodenal, en este grupo experimental (Boehm, et al., 1995).

de Jong, et al. (1985) observan un aumento significativo de PP tras la ingesta de TCL, respecto de MCT y de suero salino, sugiriendo un papel atribuible a la longitud de cadena de los ácidos grasos ingeridos como responsable de la secreción de PP.

Los ácidos grasos libres pueden reactivar el complejo lipasa-colipasa, gracias a la formación de un complejo de alta afinidad entre ambas enzimas. Así, laúrico, oleico y linoleico son los reactivadores más potentes de la actividad lipasa-colipasa, mientras que los ácidos grasos de cadena corta no ejercen efecto y los SFA de cadena larga la inhiben (Larsson and Erlanson-Albertsson, 1986). Guimbaud, et al. (1997) demuestran que los ácidos grasos libres, en mayor medida que los triglicéridos, estimulan la liberación de CCK y la contracción de la vesícula biliar, cuando están presentes en duodeno, pudiendo incrementar la secreción enzimática residual en pacientes con insuficiencia pancreática moderada.

La perfusión intravenosa de oleato (ácido graso de cadena larga), propionato (ácido graso de cadena corta) y grasa neutra (intralipídica) provoca efectos diferentes sobre la estimulación de las fracciones hidroelectrolítica y enzimática de la secreción pancreática exocrina en conejos, de manera que la primera se ve favorecida tanto por la grasa neutral como por los ácidos grasos de cadena larga, siendo una respuesta no mediada por secretina, mientras la segunda incrementa con mayor efectividad por la perfusión de ácidos grasos de cadena corta, así como de grasa neutra. El conejo muestra, por tanto, distinta capacidad adaptativa al tipo de grasa, determinada en este caso, por la longitud de cadena de los ácidos grasos presentes en la dieta (Navas, et al., 1993).

### ***EFFECTO DEL GRADO DE INSATURACIÓN DE LA GRASA***

Los datos disponibles acerca de la influencia del grado de insaturación de la dieta sobre el mecanismo adaptativo del páncreas exocrino son escasos. Con el propósito de estudiar este efecto Beaudoin, et al. (1989) alimentaron a cuatro grupos de ratas con dietas que contenían un 5% de distintas fuentes grasas (aceite de pescado, aceite de prímula, sebo de vaca hidrogenado y mezcla de aceite de pescado y prímula) durante un periodo de 6 semanas. En condiciones basales, las ratas alimentadas con grasa animal mostraron proporciones diferentes de amilasa, lipasa y proteasas séricas, al compararlas con las que ingirieron lípidos insaturados. La respuesta secretora a la estimulación con ceruleína no provocó diferencias significativas en los porcentajes relativos de las enzimas pancreáticas, en ninguno de los grupos alimentados con los aceites insaturados, pero sí aumentó hasta un 49% la secreción enzimática en el grupo que ingirió grasa

de origen animal, rica en ácidos grasos saturados. Por ello, se atribuye una función reguladora sobre la secreción pancreática exocrina al grado de insaturación de la grasa de la dieta.

En ratas alimentadas con dietas bajas (10%), moderadas (40%) o altas (67%) en grasa, procedentes de distintas fuentes (aceite de maíz, oliva, girasol, coco, mantequilla o manteca de cerdo) se pone de manifiesto una adaptación pancreática paralela al contenido en grasa de la dieta, de modo que la actividad lipásica aumenta (180%) con todas las dietas altas en grasa, independientemente del grado de insaturación de ésta. Con ingestas moderadas de grasa, solamente el aceite de girasol, altamente insaturado, incrementa la actividad de la lipasa (162%) en comparación con la dieta baja en lípidos. Con ingestas de distintos niveles de aceite de maíz, no se muestra estimulación de dicha actividad si los niveles son inferiores al 47% de grasa, mostrándose los valores máximos de estimulación con ingestas del 57-67% de grasa. Se sugiere con ello, que esta enzima lipolítica se adapta principalmente a la cantidad de grasa de la dieta, respondiendo al tipo de grasa únicamente por debajo de un nivel límite de grasa en la dieta (47%) (Sabb, et al., 1986).

La liberación de CCK en respuesta a la grasa de la dieta es distinta, tanto para triglicéridos como para ácidos grasos libres, en función del grado de insaturación de la misma. Los UFA son estimuladores más potentes de la misma que los SFA, con el consiguiente efecto sobre la secreción de enzimas pancreáticos (Beardshall, et al., 1989).

Los efectos del oleato sódico sobre la secreción pancreática en rata, cuando éste es infundido, son diferentes en función del segmento intestinal al que se realice la infusión. La infusión intraduodenal incrementa significativamente la secreción pancreática (flujo, bicarbonato y proteínas); sin embargo, la infusión intraileal no ejerce efecto alguno sobre la secreción enzimática, disminuyendo el flujo de bicarbonato (Miyasaka and Kitani, 1988). Son datos que apoyan otras investigaciones anteriores realizadas en perros por Faichney, et al. (1981), que sugieren además, un papel para la secretina endógena como mediador principal del efecto estimulador del oleato sódico intraduodenal sobre la secreción del páncreas exocrino.

La ingesta de dietas líquidas enriquecidas con 200 ml de ácido oleico (MUFA) procedente de aceite de oliva, o de linoleico (PUFA n-6) a partir de aceite de girasol durante 30 días, produce efectos adaptativos diferentes en el páncreas exocrino humano, de manera que el aceite de oliva se asocia, por una parte, con una disminución de pH más atenuada y prolongada, lo que se viene relacionando con la supresión de gastrina sérica y por otra, con niveles mayores de PYY (Serrano, et al., 1997).

Respecto de los cambios ocasionados por estas mismas dietas, administradas durante el mismo periodo de tiempo, en las actividades enzimáticas de pacientes colecistectomizados, Yago, et al. (1997) indican que no se revelan modificaciones en el periodo postprandial, excepto para la actividad lipásica, que se muestra mayor en el grupo alimentado con aceite de oliva, lo que se relaciona con toda probabilidad, con las concentraciones de CCK plasmáticas superiores observadas en este grupo. Debido a la ausencia de datos de producción enzimática, no debe ser excluída la posibilidad de que el tipo de grasa de la dieta pueda afectar a la secreción pancreática humana en mayor grado al reflejado en este estudio, a través de un efecto mediado por flujo, como ha sido demostrado en perros (Yago, et al., 1997).

Ballesta, et al. (1990) observan adaptación de la secreción pancreática a la grasa de la dieta, en perros alimentados durante 9 meses con dietas a base de aceites de oliva y de girasol como fuentes grasas. Las secreciones de bicarbonato, amilasa y lipasa pancreáticas son menores, y la de tripsina igual, para el grupo oliva, al compararlos con el grupo girasol. No obstante, se observa adaptación de la lipasa, independientemente del grado de insaturación de los ácidos grasos presentes en la dieta.

Estudios realizados en cerdos alimentados con aceites de diferente composición en ácidos grasos (aceite de pescado, de colza o de coco) manifiestan que, a nivel ileal, la digestibilidad (un aspecto estrechamente relacionado con la función lipolítica de los enzimas pancreáticos) no difiere para los ácidos grasos totales, saturados o monoinsaturados con el tipo de dieta, mostrándose elevada para todos ellos. No obstante, la digestibilidad de los PUFA procedentes de los aceites de pescado y de colza se muestra significativamente superior a la observada tras la ingesta del aceite de coco, con el consiguiente efecto potencial sobre la funcionalidad pancreática (Jorgensen, et al., 2000).

### **5.8.3.-MEDIADORES DE LA SECRECIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA**

Como hemos explicado, una serie de mecanismos neuronales específicos, así como de péptidos gastrointestinales son activados y liberados respectivamente por los constituyentes de la dieta, operando sobre la síntesis y secreción de jugo pancreático (Malfertheiner, et al., 1988). Hormonas, enzimas y bilis son factores que, de igual modo, regulan la secreción pancreática exocrina.

### **PAPEL MODULADOR DE DISTINTOS PÉPTIDOS**

#### **Adaptación a los carbohidratos de la dieta**

La insulina ha sido propuesta como mediadora de la adaptación pancreática a los carbohidratos de la dieta. En ratas diabéticas se observan niveles menores en el contenido, síntesis y ARNm de amilasa, restableciéndose los valores tras la administración de insulina (Brannon, 1990). A su vez, la insulina depende de la disponibilidad de glucosa, ya que altos niveles de este nutriente provocan un aumento en la liberación de la citada hormona (Bazin and Lavau, 1979). Por tanto, ambos componentes, glucosa e insulina, parecen influir en la liberación de amilasa, como respuesta adaptativa de la glándula pancreática a los carbohidratos de la dieta.

#### **Adaptación a la proteína de la dieta**

La liberación de las enzimas proteolíticas está regulada por CCK (Green, et al., 1986), ya que los niveles circulantes de esta hormona, así como los de ceruleína, incrementan tras la ingesta de dietas ricas en proteínas, con el consiguiente aumento en la síntesis y contenido de proteasas en el páncreas (Stockmann and Soling, 1981; Renaud, et al., 1986).

Distintos grados de infusión intrayeyunal de una dieta elemental (12.5, 25 y 50 ml/30 min), con un contenido determinado en aminoácidos, provocan en humanos incrementos significativos en la concentración de CCK plasmática, dependiente de la dosis, sin modificar las concentraciones de secretina y de gastrina. Asimismo, se observan aumentos significativos en la



secreción de amilasa, proteína y bicarbonato, lo que indica que la dosis de aminoácidos contenida en la dieta elemental, recomendada para uso clínico, puede estimular significativamente la liberación de CCK en intestino delgado. Dicho nivel de CCK plasmática es capaz de provocar un significativo incremento de la secreción pancreática exocrina (Watanabe, et al., 1986).

### **Adaptación a la grasa de la dieta**

La ingestión oral de triglicéridos o de ácidos grasos estimula la liberación de secretina (Rhodes, et al., 1988), cuya presencia en la luz intestinal provoca la secreción de la lipasa pancreática (Rausch, et al., 1986), considerándose por tanto, la secretina como principal regulador de la respuesta pancreática a la grasa de la dieta.

La grasa intraluminal, al igual que los aminoácidos son conocidos como potentes estimuladores de la secreción pancreática exocrina, por mecanismos que implican la liberación de CCK, aunque también liberan cantidades significativas de glucagón, somatostatina y polipéptido pancreático (PP), péptidos que poseen gran capacidad inhibidora pancreática (Ohneda, et al., 1975; Wilson, et al., 1978).

### **PAPEL MODULADOR DE LAS ENZIMAS**

El papel de las proteasas pancreáticas en la modulación de la secreción de las enzimas pancreáticas, como inhibidores de la misma (regulación por retroalimentación), se ha puesto de manifiesto en diferentes estudios. Tanto la tripsina como la quimiotripsina intestinales median la secreción pancreática exocrina en rata y cerdo, mediante un mecanismo de regulación feed-back negativo. Tal mecanismo ha sido observado posteriormente en humanos, en los cuales la presencia de estos enzimas en intestino delgado suprime la secreción pancreática de enzimas, mientras su retirada la incrementa (Fushiki and Iwai, 1989). En ratas quirúrgicamente preparadas con fístula pancreático-biliar, la infusión duodenal de tripsina disminuye el volumen secretor pancreático, así como la producción de proteínas y de tripsinógeno. Dichos efectos revierten al añadir un inhibidor de tripsina. La infusión de amilasa y lipasa pancreáticas, no

ejerce efecto alguno sobre los citados parámetros secretores, al igual que ocurre con la bilis, infundida también a nivel duodenal (Lilja, 1980).

Experimentos realizados con ratas, para conocer los efectos de distintos tipos de dietas sobre las actividades de carbohidrasas pancreáticas e intestinales sugieren que la adaptación de ambos sistemas enzimáticos a la composición de la dieta debe ser considerada como una reacción integrada (Iezuitova, et al., 1983). Así, se ha observado que las ratas alimentadas durante 4, 15 y 30 días con cantidades incrementadas de proteínas, lípidos y carbohidratos muestran cambios en la actividad de las correspondientes enzimas pancreáticas (proteasas, lipasa y amilasa) y carbohidrasas de intestino delgado ( $\gamma$ -amilasa, maltasa, invertasa, etc). Los análisis sugieren una estrecha correlación entre los cambios adaptativos en los sistemas enzimáticos encargados de mantener el lumen y las distintas membranas de los orgánulos que intervienen en la digestión. Los cambios se deben interpretar como una respuesta adaptativa integrada de ambos sistemas enzimáticos frente a alteraciones en la composición de la dieta (Flores, et al., 1988).

## **PAPEL MODULADOR DE LA BILIS**

Cabe diferenciar efectos distintos llevados a cabo por la bilis sobre la secreción pancreática exocrina, según distintas situaciones:

### **a) *Condiciones basales o tras estimulación hormonal***

Bajo condiciones basales, la infusión intraduodenal de bilis y de sales biliares influye en los niveles plasmáticos de diversos péptidos gastrointestinales, de modo que algunos son liberados con efecto estimulador sobre la secreción pancreática exocrina, mientras otros lo hacen con función inhibidora o sin efecto alguno. Asimismo, son activados mecanismos nerviosos colinérgicos y peptidérgicos (Riepl and Lehnert, 1993).

En humanos, la infusión intraduodenal de bilis con alta concentración de ácidos biliares provoca incrementos en el flujo y en la secreción de bicarbonato en tres casos estudiados. A

concentraciones menores de ácidos biliares, no se observan cambios obvios en dos de los casos, lo que indica que la bilis puede jugar un papel en la regulación de la secreción pancreática exocrina de agua y de bicarbonato en el hombre, atribuyéndole a las sales biliares la responsabilidad de este papel (Osnes, 1981).

Ahora bien, en términos generales, los efectos son diferentes según la especie de sal biliar considerada, en función de la solubilidad y carga administrada de la misma (Riepl and Lehnert, 1992), de modo que taurocolato y tauroquenodeoxicolato inhiben la secreción pancreática y la liberación de CCK en ratas, mientras otras producen un incremento de la misma, vía liberación de secretina y CCK (Miyasaka, et al., 1992).

En la mayoría de las especies, la producción y liberación de CCK, así como la secreción estimulada de enzimas pancreáticas aumentan en ausencia y se inhiben en presencia de ácidos biliares lumbales. La relevancia fisiológica de estos ácidos biliares en dicho control es escasamente conocida. En humanos, la retirada de ácidos biliares por supresión de la contracción vesicular desenmascara dicha supresión, con el consiguiente y drástico incremento de los niveles plasmáticos de CCK; con tan sólo una tercera parte de los ácidos biliares liberados se revierte completamente este efecto, lo que indica que los ácidos biliares son los reguladores lumbales más importantes de la liberación de CCK en humanos (Koop, et al., 1996).

Los resultados obtenidos en ratas por Green and Nasset (1980) indican un control de la bilis presente en el intestino sobre el grado de desaparición de actividad de la tripsina y la quimiotripsina lumbales, probablemente por inhibición de su autodigestión *in vivo*. Estudios previos llevaron a los autores a mostrar un descenso en ambas actividades a nivel intestinal, como consecuencia del ligamiento del conducto biliar, incrementándose sin embargo la secreción de enzimas pancreáticas.

**b) *Secreción estimulada por nutrientes***

La secreción pancreática estimulada por la grasa dietética no se ve influenciada por la administración de dosis de sales biliares, administradas en cantidades cercanas a la concentración micelar crítica, y si lo hace es inhibiéndose por efecto de las mismas. Lo mismo

ocurre cuando la secreción es estimulada por fenilalanina (Riepl and Lehnert, 1992). Estudios posteriores muestran que ni la bilis ni las sales biliares ejercen efecto inhibitor sobre la secreción de enzimas pancreáticas cuando ésta es estimulada por nutrientes intraluminales (Riepl and Lehnert, 1993).

Ahora bien, la liberación de CCK estimulada por grasa parece disminuir cuando hay un exceso de sales biliares (Gómez, et al., 1986). Por otra parte, la secreción de tripsina disminuye tras derivación de la bilis en perros colecistoyeyunotectomizados que ingieren una comida líquida (Davies, et al., 1985). Se han observado resultados contradictorios en humanos y en perros, después de administrar intraduodenalmente colestiramina, con la consiguiente elevación dosis-dependiente de proteasas pancreáticas, estimuladas por aminoácidos intraduodenales (Gómez, et al., 1988).

## **6.-PÁNCREAS Y ATEROSCLEROSIS: INFLUENCIA DE LA HIPERCOLESTEROLEMIA SOBRE LA FUNCIONALIDAD PANCREÁTICA**

La aterosclerosis es un proceso sistémico que implica a todas las arterias del organismo; generalmente transcurre silencioso, hasta que su progresión afecta a algún órgano (Marti-Vilalta and Marti-Fabregas, 1999). La relación dieta-aterosclerosis deriva de la influencia que la ingesta de grasa ejerce sobre la composición de las lipoproteínas plasmáticas, de modo que el riesgo de aterosclerosis puede incrementarse, no sólo por un aumento de LDL-c, sino también por un exceso de lipoproteínas ricas en TG, así como por niveles elevados de Lp(a) y disminuidos de HDL-c (Stone, 1994).

La hipertrigliceridemia engloba a un grupo heterogéneo de desórdenes lipoproteicos, que varía con respecto a su etiología, patrón lipoproteico y sus principales secuelas clínicas, que, entre otras, son la aterosclerosis y la pancreatitis (Geurian, et al., 1992; Foger and Patsch, 1994; Kimura and Mossner, 1996). No obstante, el papel de los TG plasmáticos como factor de riesgo en la aterosclerosis y enfermedades relacionadas ha sido objeto de controversia durante muchos años. Los estudios más recientes apoyan esta teoría e indican que el riesgo de desarrollar esta patología depende de los niveles plasmáticos de TG, de manera que presenta valores umbrales a partir de los cuales aumenta su capacidad como factor de riesgo, paralelo al aumento del riesgo de pancreatitis (Stalehhoef, 1999). Garrido, et al. (1998) consideran, como principal objetivo para el tratamiento de las dislipemias, prevenir el desarrollo de aterosclerosis y sus manifestaciones clínicas, además de eliminar la pancreatitis aguda en casos de fuerte hipertrigliceridemia.

Estudios recientes en humanos ponen de manifiesto que el páncreas es un órgano que tiende particularmente al desarrollo de daño aterosclerótico (Rosso, et al., 2001). En términos generales, la mayoría de los trabajos han sido enfocados hacia el conocimiento de la relación existente entre estados anormales de lípidos plasmáticos y pancreatitis (Chebli, et al., 1999; Holynsky, et al., 2000; Yoshinaga, et al., 2000). Ésta es una enfermedad en la que el páncreas aparece inflamado, provocándose el daño de la glándula cuando las enzimas digestivas son activadas, bien por lesión acinar o por una activación prematura de proenzimas en los conductos pancreáticos, comenzando a atacar el propio páncreas; en casos severos llegan a provocarse

hemorragias internas, daños tisulares, infección y quistes. Las enzimas y toxinas pueden entrar en la corriente sanguínea y lesionar seriamente a otros órganos como corazón, riñón o pulmón. La enfermedad se puede manifestar de dos formas: (a) *aguda*, que ocurre repentinamente y puede ser mortal, aunque lo normal es una recuperación; ahora bien, si la lesión continúa, se puede desarrollar la forma (b) *crónica*, que conduce a fuertes dolores y funcionalidad disminuída del páncreas (Gordon Uretsky, et al., 1999).

Parece existir cierto control genético de la enfermedad, pues se han encontrado genes que expresan ARNm para las proteínas I y III, en intestino delgado de ratas, asociados a pancreatitis. Ahora bien, dichos genes de expresión están regulados de manera coordinada mediante manipulaciones tanto hormonales como nutricionales (Sansonetti, et al., 1995).

También se ha venido considerando la quilomicronemia como otra posible causa de pancreatitis aguda, a la vista de los datos obtenidos por van de Vrie, et al. (1996) en pacientes enfermos con hiperlipemia combinada, que presentan niveles seriamente elevados de triglicéridos y de colesterol. Este hecho es apoyado por estudios realizados por Pschierer, et al. (1995), que indican cómo la quilomicronemia, debido a disturbios en la microcirculación, puede causar pancreatitis aguda como una de las complicaciones clínicas más severas. Tras la administración a largo plazo de n-3 en la dieta, procedente de aceite de pescado, se pone de manifiesto cierta recuperación en estos pacientes (por disminución de la apoB-48 en LDL), aunque las concentraciones de colesterol total, HDL o LDL colesterol, Lp(a) o fibrinógeno no se ven modificadas.

Tanaka, et al. (1988) describen una afectación del páncreas, con obstrucción pancreática incompleta y desarrollo de pancreatitis crónica, a consecuencia de una isquemia crónica. Histológicamente se observa: descenso del parénquima, reemplazo de grasa, infiltración celular inflamatoria severa, fibrosis extensiva y complejos tubulares, asemejándose dicho modelo al de pancreatitis crónica humana.

Uchida, et al. (1988) observan fibrosis inter e intralobular con infiltración de linfocitos, cambios degenerativos acinares, proliferación ductular y dilataciones de los conductos pequeños

de las arterias pancreáticas en conejos, idénticas a las que se producen en los casos de pancreatitis crónica humana. Dichos sucesos se observan en áreas discretas claramente demarcadas del parénquima pancreático normal y adheridas al parénquima necrotizado. Estas áreas se desarrollan junto a las regiones periféricas de obstrucción inflamatoria o necrótica del conducto pancreático, que pueden haber sido causadas por la necrosis parenquimal, debida a una isquemia severa. Las alteraciones vasculares y la isquemia secundaria en el páncreas es uno de los factores más importantes implicados en las lesiones pancreáticas que se presentan en este modelo de hiperlipemia.

Las consecuencias que la hipercolesterolemia pueden tener a nivel pancreático son poco conocidas, debido a la escasez de investigación realizada al respecto. En pacientes hipercolesterolémicos se ha observado una respuesta integrada de diferentes péptidos hormonales, reconocidos como reguladores de la secreción de enzimas pancreáticas, concretamente un aumento en los niveles de motilina y de CCK, y un descenso en los de PP. No obstante, no se encuentran diferencias significativas respecto al grupo control para otros péptidos determinados como gastrina, GIP, neurotensina, enteroglucagón, insulina o glucagón pancreáticos (Allen, et al., 1983).

Estudios histopatológicos en perros que presentan hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia manifiestan el carácter sistémico de la aterosclerosis, al mostrar lesiones ateroscleróticas en aorta y arterias musculares de diversos órganos, entre ellos el páncreas. Dichas lesiones se caracterizan por la deposición de lípidos e infiltración de células espumosas cargadas de grasa en la íntima y media de la túnica, constituyendo placas fibrograsas, que contienen acúmulos de colesterol y de material sudanofílico y mineralizado. El examen histoquímico con anticuerpos de apoB-100 caninos identifican LDL. Estas observaciones son similares a las encontradas en las lesiones ateroscleróticas humanas (Kagawa, et al., 1998).

Moolenaar and Lamers (1996) sugieren que la pancreatitis puede ser la consecuencia de una embolización por cristales de colesterol en la glándula, observada en ancianos con historial de enfermedad vascular aterosclerótica, lo que apoya nuevamente la idea de que la aterosclerosis sea un factor desencadenante de pancreatitis. Justrabo, et al. (1982) observan cantidades considerables de colesterol en focos ateroscleróticos, que inducen la obstrucción de

pequeñas arterias pancreáticas. Datos más recientes muestran resultados contradictorios acerca del efecto de los niveles de colesterol plasmáticos sobre la aparición de esta enfermedad en pacientes de edad avanzada, en los que el estado hipocolesterolémico parece ser, en este caso, causa de pancreatitis aguda (Gang, et al., 1999).

### **6.1.-EFECTO DE LA ATEROSCLEROSIS SOBRE LA ACTIVIDAD Y SECRECIÓN DE ENZIMAS PANCREÁTICAS**

La implicación de determinadas enzimas pancreáticas en el transcurso de la aterosclerosis sugiere la idea de que se producen cambios adaptativos de la glándula en este estado patológico (Steiner and Williams, 2000). Las medidas bioquímicas determinadas en suero de perros con pancreatitis aguda demuestran un aumento en los niveles de actividad enzimática en páncreas, junto a la aparición de hipercolesterolemia y lipemia (Hess, et al., 1998).

Caillol, et al. (1997) han detectado que la actividad de la lipasa pancreática en suero aumenta significativamente cuando lo hacen los niveles de la LDL-c, apo B-100 y apo A-I, en sujetos normolipémicos. La asociación entre dicha enzima lipolítica y la LDL, es en parte debida a una interacción específica con apo B100.

Los ácidos grasos no esterificados, liberados al intersticio pancreático por la lipasa, poseen la capacidad de actuar como detergentes de las membranas acinares, en el transcurso de la pancreatitis aguda, pudiendo promover necrosis pancreática (Schmidt, et al., 1978; Lee, et al., 1979). Paye, et al. (1996) no encuentran modificaciones en los niveles de ácidos grasos en el tejido pancreático de ratas con pancreatitis aguda, respecto de los valores encontrados en animales control, tras la infusión de VLDL humana. Estudios posteriores han puesto de manifiesto en ratas que la peroxidación lipídica de la membrana en la célula acinar, que se origina tras la liberación de ácidos grasos, es un factor importante en la insuficiencia pancreática (pancreatitis) inducida por hiperlipemia (Morita, et al., 1998).



La aterosclerosis tiene una base alimentaria, sin un mecanismo molecular comprobado para la absorción del colesterol. López-Candales, et al. (1996) investigan el papel del páncreas en este proceso y su interacción con las dos formas de colesterol presentes en la dieta, libre y esterificado, e indican que los ésteres de colesterol presentes en la dieta contribuyen con una desproporcionada, a la vez que elevada, fracción del colesterol absorbido de la dieta, o sea, que esta fracción de colesterol es absorbida en una proporción muy elevada. Por otro lado, este grado de absorción de colesterol a nivel intestinal se correlaciona con la actividad de colesterol esterasa pancreática, que, a su vez incrementa el transporte de colesterol libre en las células intestinales humanas cultivadas en un 300%. Asimismo, la inducción de la síntesis de ARNm específico para dicha enzima es mayor con los ésteres de colesterol, mostrándose dicha inducción reversible. Los datos implican a esta enzima como pieza fundamental de un giro metabólico, bajo control *feed back* positivo, para la absorción del colesterol de la dieta, tanto libre como esterificado, con la consiguiente respuesta colesterolemica.

Un estudio previo, realizado en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y colesterol, muestra un aumento en los niveles de ARNm de colesterol esterasa pancreática paralelos a los observados en los de ARNm de lipasa pancreática. La regulación coordinada de ambas enzimas sugiere un papel importante de las mismas en la absorción de lípidos de la dieta a través del tracto gastrointestinal (Brodt-Eppley and Hui, 1994).

La presencia de elastasa pancreática II y de tripsinógeno catiónico en aorta abdominal afectada de aneurisma, observada mediante el empleo de técnicas específicas de RIA, sugiere una correlación entre esta fisiopatología y las proteasas pancreáticas circulantes (Dubick, et al., 1988).

La aterosclerosis parece estar indirectamente relacionada también con anomalías en la función de la lipoproteínlipasa (LPL), enzima de la familia de las lipasas (Murthy, et al., 1996). Savel'ev, et al. (1995) hablan de una interrelación causa-efecto entre dislipoproteinemia y pancreonecrosis, poniendo de manifiesto que, debido a un fenómeno de toxemia pancreatogénica, los pacientes desarrollan dislipoproteinemia y, como consecuencia, daños ateroscleróticos tempranos en distintas arterias.

## **6.2.-EFECTO DE LA ATEROSCLEROSIS SOBRE EL PANCREAS ENDOCRINO**

La funcionalidad del páncreas endocrino también parece verse afectada por el proceso aterosclerótico, a la luz de los datos existentes al respecto. Esto sugiere, junto con los escasos trabajos publicados acerca del páncreas exocrino, que el páncreas puede ocasionar una respuesta adaptativa al proceso aterosclerótico.

La porción endocrina del páncreas parece responder al estado hiperlipémico a través de un incremento en la secreción de insulina, como se ha observado en humanos con hipertrigliceridemia (Gama, et al., 1995). Por el contrario, la ingesta de una dieta aterogénica provoca en monos una respuesta endocrina del páncreas distinta, con aumentos significativos (80%) en el volumen de células secretoras de glucagón ( $\alpha$ ) y el consiguiente descenso en el de células secretoras de insulina ( $\beta$ ) (Louw, et al., 1997).

Se ha observado que los sujetos diabéticos son particularmente propensos a la enfermedad vascular. Una alteración metabólica secundaria a la diabetes, como es la hiperglucemia, puede provocar modificaciones en las lipoproteínas, oxidándolas, de manera que éstas promuevan la aterogénesis (Kawamura, et al., 1994). Nair, et al. (1997) hablan de un “triángulo enigmático” cuando estudian la interrelación: diabetes, hiperlipemia y pancreatitis aguda. Dixon, et al. (1999) muestran un aumento significativo en el contenido de estrías grasas arteriales en cerdos diabéticos, sin observar modificaciones en respuesta a la grasa de la dieta.

## **6.3.-PAPEL DEL ÓXIDO NÍTRICO EN LA ATEROSCLEROSIS**

El factor de relajación vascular dependiente del endotelio, reconocido como óxido nítrico, media la acción de algunos vasodilatadores (Palmer, et al., 1987) y es rápidamente destruido por sistemas generadores de radical superóxido, como xantina/xantina-oxidasa (Rubanyi and Vanhoutte, 1986), protegiéndose por otros como la superóxido-dismutasa (SOD) (Gryglewski, et al., 1986). Distintos estudios ponen de manifiesto un empeoramiento de la relajación endotelial en relación con hipercolesterolemia y aterosclerosis (Jayakody, et al., 1985; Freiman, et al., 1986). Investigaciones posteriores han mostrado que la producción de óxidos de

nitrógeno en aorta de conejos hipercolesterolémicos y ateroscleróticos está marcadamente incrementada, más que empeorada (Minor, et al., 1990), lo que indica una ausencia de efecto de la hipercolesterolemia en este sentido. Mügge, et al. (1991, (a)) observan que la inhibición de la superóxido-dismutasa provoca un efecto negativo sobre la liberación de los factores implicados en la relajación vascular. La administración de dicha enzima restaura el estado de relajación en los vasos sanguíneos de dichos animales (Mügge, et al., 1991(b)). Ohara, et al. (1993) confirman que el exceso de producción de iones superóxido en esta misma especie puede inactivar al óxido nítrico y proporcionar una fuente para otros radicales de oxígeno, los cuales contribuyen al proceso aterosclerótico.

Estudios más recientes ponen de manifiesto que el óxido nítrico ejerce un efecto beneficioso sobre la formación de edema en la pancreatitis aguda; a pesar de ejercer una leve acción directa sobre la microcirculación, su efecto en esta enfermedad sugiere una acción indirecta sobre los leucocitos circulantes, potenciadores de insuficiencia tisular. No obstante, se le confiere mayor importancia a su acción protectora sobre la actividad de tripsinógeno, proenzima correlacionada con necrosis e inflamación glandular, que conlleven a la mortalidad (Werner, et al., 1997).

#### **6.4.-ÓXIDO NÍTRICO Y SECRECIÓN PANCREÁTICA EXOCRINA**

Enlazando con este aspecto, existen estudios acerca del papel del óxido nítrico sobre el control de la secreción pancreática, tanto endocrina como exocrina, en humanos y en diferentes especies animales. En el perro, la estimulación pancreática se encuentra mediada, al menos en parte, vía óxido nítrico Bilski, et al. (1995(a)). Este componente regula asimismo la estimulación colinérgico-vagal de la secreción y la respuesta a la infusión duodenal de nutrientes en estos animales (Bilski, et al., 1995 (b)).

En humanos, la supresión de la óxido nítrico-sintasa (enzima responsable de la síntesis de óxido nítrico) reduce la secreción pancreática, así como los niveles de PP e insulina plasmáticos, sugiriendo que el óxido nítrico endógeno afecta a las secreciones endocrina y exocrina de la glándula pancreática (Konturek, et al., 1997). En corderos, la inhibición de la

secreción pancreática exocrina por un inhibidor de la óxido-nítrico-sintasa está presumible y parcialmente mediada por un efecto contráctil sobre el duodeno (Onaga, et al., 2000).

Konturek, et al. (1993) apuntan hacia la probabilidad de que el óxido nítrico endógeno afecte a la secreción pancreática a través de cambios en la pared vascular. Datos recientes demuestran el papel del óxido nítrico endógeno en la regulación de la secreción pancreática exocrina estimulada por la acción conjunta de secretina y CCK, sin observarse modificaciones en la liberación de secretina o CCK por separado, ni de VIP (Jyotheeswaran, S., et al., 2000).

Kisfalvi, K., et al. (1996) describen al óxido nítrico como uno de los factores implicados, junto con las prostaglandinas, en los mecanismos de defensa de las células endoteliales y acinares, en el transcurso de la pancreatitis aguda.

Estudios en nuestro laboratorio han revelado recientemente la habilidad del óxido nítrico para controlar la liberación de neurotransmisores endógenos en el páncreas y, en consecuencia, la secreción enzimática controlada por mecanismos nerviosos (Yago, et al., 2001).

## **7.- PÁNCREAS EXOCRINO Y MEMBRANAS CELULARES**

### **7.1.-ASPECTOS ESTRUCTURALES DE LAS MEMBRANAS PANCREÁTICAS Y REPERCUSIONES FUNCIONALES**

Tal y como se ha indicado en el capítulo que relaciona la grasa de la dieta y las membranas celulares, es prácticamente inexistente la investigación acerca del potencial efecto de los lípidos sobre la composición de la membrana acinar pancreática. Asimismo, se desconoce si los cambios esperados en dicha estructura o en sus componentes ocasionan, en consecuencia, mecanismos que modifiquen la funcionalidad de la misma.

La escasa bibliografía encontrada, previamente citada, pone de manifiesto únicamente que la naturaleza de la grasa ingerida a través de la dieta provoca alteraciones en la composición de la membrana acinar del páncreas de rata, afectando al patrón de enzimas digestivas específicas almacenadas en los gránulos de zimógeno (Begin, et al., 1990). Lo que, sin embargo, no se ha clarificado, es la manera en que ambos eventos pudieran estar relacionados.

Una primera sugerencia, asociada al fenómeno adaptativo, es que los cambios en la composición de la dieta alteran la función celular a través de modificaciones en los mecanismos de activación hormona-receptor, tal y como ha sido confirmado en el caso de la unión de insulina a la membrana plasmática del adipocito (Field, et al., 1990).

Un segundo aspecto a considerar es el hecho de que los cambios ocasionados en la membrana por variaciones en la composición de los lípidos de la dieta sean capaces de alterar la expresión de la función nuclear, bien a nivel de síntesis génica de determinados componentes, bien por modificaciones en el transporte de los mismos fuera del núcleo.

Ambos razonamientos nos parecen acertados, puesto que la mayoría de los mecanismos de regulación metabólica ocurren en sitios localizados a nivel de la membrana celular.

La membrana del gránulo de zimógeno pancreático participa de manera importante en la secuencia de almacenaje, transporte y exocitosis de las enzimas digestivas. En concreto, las

proteínas localizadas en la superficie celular del gránulo de zimógeno juegan un papel principal en el fenómeno de exocitosis del páncreas exocrino (LeBel and Beattie, 1984). Estas membranas reflejan el dinamismo necesario para llevar a cabo las citadas funciones, ya que son permeables a las proteínas secretoras contenidas en los mismos (Rothman and Liebow, et al., 1985). La secreción de proteínas pancreáticas (como proenzimas) se lleva a cabo a través de esos procesos de exocitosis de los gránulos de zimógeno, que fusionan con la membrana plasmática pancreática.

Son numerosos los trabajos que describen la existencia de diversos componentes de naturaleza proteica asociados a las membranas de la célula acinar, con papeles importantes asociados a los procesos de fusión y exocitosis. Así, se ha descrito una estimulación de la fusión de los gránulos de zimógeno con la membrana plasmática de la célula acinar, por GTP (guanosina 5´trifosfato) y más potentemente por GTP(S) (guanosina 5´-gamma-tio-fosfato) (MacLean and Edwardson, 1992). Por otra parte, se han conseguido clonar proteínas de membrana del gránulo de zimógeno (GP-2 y G-P 3) e identificar otras ligadas a GTP, sin haberse descubierto su papel a nivel molecular (Wagner and Williams, 1994). Posteriormente, Soriani, et al. (1995) demuestran la existencia de una glicoproteína de 92 kd, probablemente una forma de GP-2, que modula la actividad nucleósido-fosfatasa de las membranas de gránulos de zimógeno pancreáticos, lo que indica un control de los citados componentes proteicos de membrana sobre los procesos de fusión y exocitosis pancreáticos.

Asimismo, los agentes fisiológicos que ejercen sus efectos sobre la secreción pancreática exocrina interactúan en principio con sus receptores localizados en la membrana celular (Williams, et al., 1989). Distintas proteínas G están implicadas en el acoplamiento, desde el punto de vista funcional, de los receptores de membrana de CCK y de Ach, ligados a movimientos de  $Ca^{2+}$ , a la PLC, para la activación de fosfoinositoles (Matozaki, et al., 1988).

Todos estos componentes de membrana posiblemente se vean afectados por modificaciones en el ambiente lipídico que los rodea, tal y como se ha descrito que ocurre en otros tipos celulares. De hecho, la determinación *in vitro* de la ultraestructura de la membrana de gránulos de zimógeno de rata, muestra la presencia de alteraciones de determinados dominios

de membrana, que ocurren durante la lisis granular, en la que aparecen determinados tipos de fosfoinositoles (Cabana, et al., 1988).

Incluso se ha observado una posible relación de procesos de ruptura y fusión de membranas con patologías pancreáticas. Estudios en sujetos con pancreatitis aguda indican una disrupción de las membranas de los gránulos de zimógeno y la consiguiente fusión con cuerpos lisosomales, que pueden contribuir a la patogénesis de esta enfermedad (Willemer, et al., 1989).

Estudios recientes, llevados a cabo en ratas con diferentes estados de pancreatitis aguda, inducida por obstrucción del conducto pancreático, ponen de manifiesto alteraciones progresivas en determinados componentes de membrana plasmática de las células pancreáticas (Pinto, et al., 2000).

Por otra parte, se ha descrito que, en el tejido pancreático de sujetos con pancreatitis aguda, la hidrólisis de fosfolípidos de membrana y la consiguiente liberación de ácido araquidónico de los mismos para la síntesis de prostaglandinas, pueden ser funciones asociadas a la reacción inflamatoria que tiene lugar en el transcurso de esta enfermedad (Nevalainen, et al., 2000). Otros autores indican que los mecanismos de defensa celular en el transcurso de pancreatitis incluyen la reparación de las membranas celulares acinares y endoteliales (Kisfalvi, et al., 1996).

En términos generales, podemos asegurar que tanto las membranas como endomembranas pancreáticas poseen cierta homología en sus constituyentes, respecto al resto de células y órganos descritos, los cuales parecen ejercer funciones de vital importancia para la célula acinar a nivel secretor. Esto nos lleva a pensar que, la funcionalidad de estas membranas se vea igualmente afectada por cambios en su composición, concretamente en el ambiente lipídico que las rodea, el cual sirve de soporte para la proteínas funcionales. La fluidez de las membranas de estas células, potencialmente modificada por los lípidos, ejercería un papel clave en dicha funcionalidad, como se ha demostrado que ocurre en diversas células, procedentes de otros tejidos.

## 7.2.-MECANISMOS DE ACOPLAMIENTO ESTÍMULO-SECRECIÓN EN LAS CÉLULAS ACINARES

En relación a estos hechos, hemos considerado preciso detenernos en los procesos de acoplamiento estímulo-secreción que tienen lugar en la célula acinar pancreática, pues, a pesar de que éstos son desencadenados por diferentes vías, en todas ellas es necesario que se activen señales transmembrana, las cuales actúan como intermediarios entre las señales extracelulares o primeros mensajeros y la generación de componentes en el interior celular, conocidos como segundos mensajeros, que a su vez desencadenan una respuesta, tras intervenir sobre los denominados efectores. Dichas señales transmembrana son de naturaleza proteica, destacando: (a) *proteínas G*, también conocidas como “GTP binding proteins”, constituidas por tres subunidades diferentes  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$ , apareciendo las dos últimas en forma de complejo  $\beta\delta$  (Simon, et al., 1991); (b) *adenilato ciclasa (AC)*, responsable del incremento en la actividad secretora de las células acinares, a través de la vía del AMPc, estimulada por péptidos de la familia de la secretina (Robberecht, et al., 1982; Hootman and Williams, 1987) y (c) *fosfolipasa C (FLC)*, de origen citoplasmático (Yule and Williams, 1994), pero que se debe unir a la membrana acinar para posibilitar la hidrólisis de fosfolípidos de inositol, un tipo de fosfolípidos de membrana, con papeles específicos como moléculas mensajeras.

Algunas proteínas G de membrana incrementan la [AMPc] a través de receptores de membrana; otras ejercen un efecto inhibitorio sobre esta vía, por lo que se han clasificado en proteínas G estimuladoras (Gs) e inhibitoras (Gi), según presenten un tipo u otro de subunidad (Simon, et al., 1991) Spiegel, et al. (1990) las clasifican desde un punto de vista funcional (Gt, Go, Gp, etc) y Kaziro (1990) lo hace en base a los distintos cambios sufridos por estas subunidades. Generalmente se acepta que la subunidad  $\alpha$  es la que activa al efector (Yule and Williams, 1994). En las células acinares existen 15 formas diferentes de la subunidad  $\alpha$  (Schneffel, et al., 1990), lo que sugiere la presencia de distintas vías para la transducción de señales en estas células pancreáticas, mediadas por proteínas G.



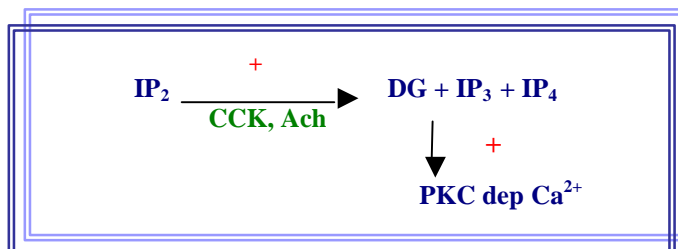
También existen receptores de CCK que estimulan diferentes proteínas G, según estén en estado de alta o baja afinidad. Por lo tanto, son un conjunto de proteínas G las que integran y regulan la respuesta secretora frente a los distintos secretagogos (Lajas, 1998).

Se conocen cuatro subunidades diferentes que constituyen el equipo enzimático conocido como FLC:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$  (Meldrum, et al., 1991). Esta enzima interviene hidrolizando moléculas de  $IP_4$ ,  $PIP_2$  e  $IP$  (Hokin and Dixon, 1990), generando DG e  $IP_3$ .

Al respecto, cabe destacar la influencia que la dieta parece tener a estos niveles. Así, Leli, et al. (1990) indican que ésta puede provocar lesiones en la membrana acinar de páncreas de ratón, bien directamente sobre la FLC, bien a través de proteína G. Otros autores han propuesto la participación de los ácidos grasos insaturados, entre otros factores, como activadores de la FLC (Martin, 1989).

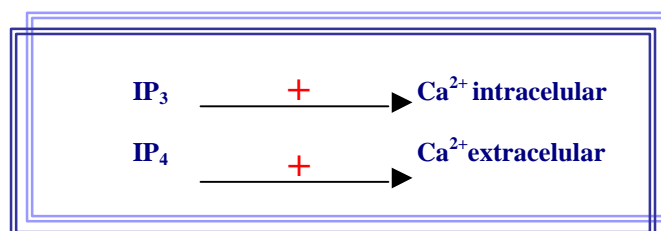
### ***7.2.1.-PRINCIPALES VÍAS DE TRANSDUCCIÓN EN LOS MECANISMOS DE ACOPLAMIENTO ESTÍMULO-SECRECIÓN DEL PÁNCREAS EXOCRINO***

Se han venido aceptando generalmente dos vías distintas de actuación de los principales secretagogos pancreáticos (secretina y CCK) en los mecanismos de acoplamiento estímulo-secreción. Por una parte, la secretina y sus análogos (VIP y glucagón) intervienen activando la adenilato-ciclasa (AC), enzima situada en la membrana acinar, provocando el consiguiente incremento de AMPc intracelular, como hemos citado anteriormente. Por otro lado, la CCK, principal estímulo hormonal de la secreción de enzimas pancreáticas, y la acetilcolina (Ach), neurotransmisor liberado a través del sistema nervioso parasimpático y estimulador asimismo de la secreción enzimática del páncreas exocrino, intervienen como secretagogos, provocando la hidrólisis de fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato ( $4,5-IP_2$ ), y la posterior formación de diacilglicerol (DG), inositol 1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ) e inositol 1,3,4,5-tetrafosfato ( $IP_4$ ) (Figura 10), así como productos de la reacción (Berridge, 1987; Yule and Williams, 1994). El DG es el activador endógeno de la PKC dependiente de  $Ca^{2+}$  (Berridge, 1987; Nishizuka, 1988), un compuesto que juega un papel importante en la regulación del tipo y cantidad de secreción iniciada por un secretagogo (Ederveen, et al., 1990; Francis, et al., 1990). Dichas reacciones se desencadenan tras mecanismos de acoplamiento hormona-receptor, en la membrana.



**Figura 10:** Vía de transducción de hidrólisis de fosoinositoles, estimulada por CCK y Ach, que desencadenan la movilización de  $Ca^{2+}$  intracelular.

El  $IP_4$  media, en parte, la entrada de  $Ca^{2+}$  desde el medio extracelular (Berridge and Irvine, 1989), mientras que  $IP_3$  actúa movilizándolo el  $Ca^{2+}$  intracelular almacenado en el retículo endoplasmático rugoso (RER) (Streb, et al., 1983) (Figura 11).



**Figura 11:** Movilización de  $Ca^{2+}$  intra y extracelular, mediado por  $IP_3$  e  $IP_4$  respectivamente.

Esta liberación inicial de  $Ca^{2+}$  provoca un vaciamiento de almacenes adyacentes, a través de la activación de los denominados receptores de rianodina (pool insensible a  $IP_3$ ) (Wakni, et al., 1990).

El incremento de  $Ca^{2+}$  total a nivel intracelular está íntimamente ligado a la activación de calmodulina dependiente de  $Ca^{2+}$ , que, como en el caso de la PKC, se trata de una proteína fosforilada, asociada a la membrana de los gránulos de zimógeno; esto origina un aumento en el tamaño de los gránulos, migración y acoplamiento, fusión con la membrana luminal, exocitosis y consiguiente secreción de enzimas digestivos (Petersen and Gallacher, 1988; Schulz, et al., 1986).

La creciente convicción de que el  $\text{Ca}^{2+}$  juega un papel vital como mensajero intracelular ha dejado de lado el estudio del  $\text{Mg}^{2+}$ . Sin embargo, éste se localiza en muchos tipos de células y está implicado en diversos procesos fisiológicos y bioquímicos, durante la homeostasis celular, incluidos la síntesis de proteína, la estabilización de membranas y el movimiento transmembrana de iones, la regulación de las actividades de los canales iónicos, la síntesis y replicación de ADN y ARN y la secreción de enzimas y hormonas. Además, es un importante cofactor de alrededor de 300 enzimas. La activación de PKC, por ejemplo, es modulada por cationes mono y divalentes, entre ellos el  $\text{Mg}^{2+}$  (Trudell, et al., 1989).

En lo que concierne a la célula acinar pancreática, las investigaciones de la mayoría de autores se han centrado en las relaciones existentes entre señales de  $\text{Ca}^{2+}$  y de  $\text{Mg}^{2+}$ , en el proceso de acoplamiento estímulo-secreción. De manera importante, una perturbación de la  $[\text{Mg}^{2+}]$  extracelular se ha visto que tiene un profundo efecto sobre la secreción pancreática estimulada por secretagogos. En concreto, incrementos en la  $[\text{Mg}^{2+}]$  extracelular, posteriores al incremento en la  $[\text{Mg}^{2+}]$  libre intracelular, inhiben la respuesta secretora inducida por secretagogos, mientras que la disminución de la  $[\text{Mg}^{2+}]$  extracelular ejerce el efecto opuesto (Juma, et al., 1996; Wisdom, et al., 1996).

Existe evidencia de que este efecto del  $\text{Mg}^{2+}$  está fuertemente ligado con la movilización de  $\text{Ca}^{2+}$  desde los almacenes celulares al medio extracelular, a través de distintos mecanismos (Singh and Wisdom, 1995; Wisdom, et al., 1995; Mooren, et al., 2001), entre ellos el control del metabolismo de  $\text{IP}_3$  vía modulación de la actividad del enzima responsable de su hidrólisis: la 5-fosfatasa dependiente de  $\text{Mg}^{2+}$  (Shears, 1989).

Ambas vías han sido consideradas las más importantes a nivel de páncreas exocrino (Yule and Williams, 1994).

Más recientemente ha sido descrito un tercer mecanismo, en el que intervienen las proteínas tirosina cinasas (Duan and Williams, 1994). Estas se agrupan en dos tipos diferentes, según se localicen ligadas a receptores de membrana o a nivel citoplasmático. Las dos participan en la transducción de señales, con efectos importantes sobre el crecimiento y la

proliferación celular (Campbell, et al., 1992). Las primeras, de mayor interés para nosotros, son activadas por insulina y factores de crecimiento. Estos factores de crecimiento intervienen mediante su unión a receptores específicos de membrana. Las distintas familias de receptores de estos factores se distinguen entre sí por su acoplamiento con diferentes mecanismos de señales intracelulares, que prosiguen al proceso de unión al receptor (Nishizuka, 1992). En base a sus homologías estructurales, destacan: a) la familia del factor de crecimiento epidermal (EGF), b) del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), c) del factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF $\beta$ ) y d) la del denominado “insuline-like growth factor” (factor de crecimiento ligado a insulina) (IGF). Los miembros de una misma familia comparten, además de características funcionales, sus receptores, siendo éstos total o parcialmente intercambiables (Podolsky, 1994).

Diversos trabajos realizados *in vivo* e *in vitro* muestran resultados contradictorios acerca del papel de los factores de crecimiento sobre el páncreas exocrino. En unos casos muestran un papel modulador de los mismos y en otros ausencia de efecto (Morisset, et al., 1989; Jaworek and Konturek, 1990; Dembinski, et al., 1982; Logsdon and Williams, 1983 (a),(b); Lajas, 1998).

Por otra parte, se han realizado numerosos estudios que ponen de manifiesto la relación entre estas proteínas cinasas y los procesos secretores, a través de la activación de receptores de membrana acoplados a proteínas G. Dicha estimulación ocasiona la fosforilación en cascada de residuos de tirosina (Lutz, et al., 1993; Duan, et al., 1994; Rozengurt, 1995), que posiblemente represente una vía de transducción de la señales de secreción (Cox, et al., 1996; Dallas, et al., 1996; Kinoshita, et al., 1996).

En la célula acinar pancreática se han obtenido resultados poco aclaratorios al respecto. Unos han mostrado estimulación de la secreción enzimática inducida (Jena, et al., 1991; Lutz, et al., 1993; Piiper, et al., 1994), mientras otros indican ausencia de efecto, tras tratamiento con inhibidores de estas tirosina cinasas (Duan, et al., 1994). Los estudios más recientes apuntan un efecto de dichas proteínas sobre el movimiento de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, como principal responsable de la regulación de la secreción de amilasa pancreática (Lutz, et al., 1993; Duan, et al., 1994; Yule, et al., 1994).

Lajas (1998) indica que la activación directa de proteínas cinasas ligadas al receptor del bFGF ejerce un papel modulador sobre la secreción pancreática, inhibiendo la respuesta pancreática estimulada por CCK. La inhibición de dichas proteínas promueve la movilización de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, asociada generalmente a un patrón secretor de enzimas digestivas.

### **7.2.2.-REGULACIÓN DE LAS SEÑALES DE TRANSDUCCIÓN POR LOS LÍPIDOS DE MEMBRANA**

Los mecanismos por los que la grasa de la dieta puede afectar a los procesos biológicos son muchos y variados. Las investigaciones actuales indican que, aunque la síntesis de fosfolípidos ocurre por ensamblaje de membranas, en algunos casos también son sintetizados y modificados extensamente *in situ*, para proporcionarle un papel como segundos mensajeros, en respuesta a estímulos específicos (regulación de PKC por DG) y tal vez para proporcionar especies moleculares para objetivos concretos. Esto nos hace pensar que nuestros hallazgos previos, realizados *in vivo* en perros después de un periodo de adaptación a distintas grasas de la dieta (Ballesta, et al., 1990), puedan ser debidos a un efecto directo a nivel de metabolismo, concentración y acción de diferentes mediadores intracelulares, entre otros los fosfolípidos de membrana. Este fascinante área ha sido, como decíamos, escasamente explorada, y en nuestro grupo de trabajo estos experimentos están en progreso para caracterizar los mecanismos que actúan en el fenómeno de adaptación pancreática a la grasa de la dieta.

### **ÁCIDOS GRASOS DE MEMBRANA Y SEÑALES DE TRANSDUCCIÓN**

Los ácidos grasos que constituyen los fosfolípidos de membrana son importantes moléculas señal en la célula, ya que pueden actuar como segundos mensajeros en la transducción de señales externas (Sumida, et al., 1993). Así, sustituyen a los clásicos mensajeros de fosfoinositol e intervienen en los fenómenos de transducción de señales de AMPc.

También intervienen como moduladores, ya que actúan de manera reversible y precisa, a nivel intracelular, para amplificar, atenuar o desviar una señal en un periodo muy corto de tiempo. Así, modifican las actividades de fosforilasas, proteinkinasa, proteínas G, adenilato y guanilato ciclasas, así como canales iónicos, receptores de membrana y otros procesos

bioquímicos, implicados en los mecanismos de acoplamiento estímulo-secreción. Estudios de la alteración de los componentes de membrana que contienen receptores para Ach (observada por el empleo de polietilenglicol) ponen de manifiesto el papel potencial de los lípidos de membrana en la regulación de la función de los citados receptores (Zabrecky and Raftery, 1985). La mayoría de las funciones biológicas de los ácidos grasos insaturados se deben a su habilidad para actuar en este sentido.

La acción de los ácidos grasos sobre los fenómenos de transducción de señales puede ser directa o indirecta (por ejemplo, por conversión catabólica de ácido araquidónico a eicosanoides, los cuales ejercen dicha acción). No obstante, una serie de estudios muestran que los ácidos grasos *per sé* son mensajeros y moduladores, mediando respuestas celulares a señales extracelulares (Graber, et al., 1994). El ácido araquidónico, en particular, actúa como 2<sup>o</sup> mensajero en las señales de transducción, por interacciones ligando-receptor, siendo un buen ejemplo de ello la activación por el mismo de la PKC (McPhail, et al., 1984), esta enzima, como hemos mencionado, funciona como transductor de un segundo mensajero, el diacilglicerol y puede ejercer su acción directamente o a través de Ca<sup>2+</sup>, provocando un efecto regulador (activador o inhibidor), sobre las actividades de las enzimas fosforiladas por esta kinasa, por ejemplo, la calmodulina (Schulz, et al., 1986; Petersen and Gallacher, 1988). Son procesos que han abierto nuevas perspectivas en la regulación de la comunicación intra e intercelular (Farooqui, et al., 1988).

Los receptores de CCK de alta afinidad son acoplados por la vía ácido araquidónico-fosfolipasa A<sub>2</sub> para mediar las oscilaciones de Ca<sup>2+</sup> y la secreción de amilasa, en células acinares pancreáticas de rata (Mizuno, et al., 2000), lo que indica un papel del ácido araquidónico en este sentido. Han, et al. (1999) han mostrado que diversos monoglicéridos, sintetizados a partir de glicerol, muestran actividad en relación a la liberación de Ca<sup>2+</sup> en las células acinar pancreática.

## **COLESTEROL DE MEMBRANA Y SEÑALES DE TRANSDUCCIÓN**

Estudios recientes apoyan la intervención del colesterol de membrana en las señales de transducción, en distintas vías (Incardona and Eaton, 2000). El flujo y transporte de colesterol en lipoproteínas a través de la membrana es uno de los principales procesos implicados en la homeostasis del colesterol celular. La regulación intracelular del transporte de colesterol no sólo está mediada por la concentración extracelular de lipoproteínas y por respuestas transcripcionales a alteraciones en el contenido en colesterol libre intracelular. También parece existir un mecanismo regulador a cargo de productos sintetizados tras la activación de señales de transducción que tienen lugar en la membrana celular (Pomerantz, K.B., et al., 1995). Yokoyama (1998) también indica que la movilización de colesterol intracelular para la generación de HDL es un fenómeno mediado por señales de transducción celular.

Se ha demostrado que existe una relación directa entre el incremento del contenido en colesterol y el aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, en células del músculo liso arterial, viéndose disminuía la actividad ATPasa  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ . Estos datos sugieren que la acumulación de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular se debe al efecto alterante del colesterol insertado en la membrana, así como a interacciones directas entre colesterol y proteínas ligadas a la misma, tales como la del canal de  $\text{Ca}^{2+}$  y la ATPasa  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  (Zhou, et al., 1991). Estos resultados nos sugieren que en la célula acinar pueda ocurrir lo mismo, por modificaciones en el contenido en colesterol de la membrana.

Estudios recientes han sugerido que los microdominios constituidos por colesterol y esfingolípidos, presentes en las membranas celulares, pueden funcionar como plataformas para determinadas proteínas modificadas por lípidos, como aquellas ancladas a fosfoinositoles y a tirosina cinasas. Se ha propuesto que estos microdominios están implicados en el transporte de dichas proteínas ligadas a fosfoinositoles y en las señales de transducción, vía tirosina cinasas (Kasahara and Sanai, 1999).

Schmidt, et al. (2001) han examinado recientemente el papel del colesterol y de los glicosfingolípidos de membranas: (a) en la salida de las enzimas digestivas de los gránulos de

zimógeno pancreáticos y (b) en la propia formación del gránulo, observando que ambos componentes son requeridos para dichos procesos.

## **IMPLICACIÓN DE OTROS LÍPIDOS DE MEMBRANA EN LAS SEÑALES DE TRANSDUCCIÓN**

Otros estudios demuestran que, en las membranas, los productos resultantes de la hidrólisis de esfingomielina, tales como esfingosina o ceramida, intervienen como segundos mensajeros en determinadas acciones biológicas. A nivel pancreático, se ha comprobado que ambos componentes inhiben la secreción de las enzimas digestivas inducida por CCK-8 o por carbacol, en acinos de rata, y que este efecto es dosis-dependiente. Sin embargo, ninguno de los dos afecta a la secreción basal de amilasa desde el acino. Por otro lado, ha sido constatada una acción inhibitoria de la ceramida sobre la secreción de amilasa inducida por ionóforos de  $\text{Ca}^{2+}$ , lo que indica que el proceso secretor se ve afectado por este lípido de membrana, en páncreas exocrino de rata (Shinkai, et al., 1997).

### **7.2.3.-OTROS ASPECTOS RELACIONADOS CON LA MEMBRANA ACINAR**

Se ha demostrado que las señales de  $\text{Ca}^{2+}$  en la célula acinar requieren la existencia de gradientes de pH subcelular (Gonzalez, et al., 1997). Tsunoda (1993) sugiere una entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular como consecuencia de la bajada de pH intracelular, pero si el pH ácido es el extracelular, parece inhibirse dicha entrada. O sea, que la apertura de canales transmembrana para  $\text{Ca}^{2+}$ , que se produce en el mecanismo de acoplamiento estímulo-secreción, parece depender de la  $[\text{H}^+]$  en la cara externa de la membrana. De hecho, se ha propuesto la existencia de un canal de membrana para  $\text{Ca}^{2+}$  sensible al pH (Kremmer, et al., 1987).

La secreción de las enzimas digestivas pancreáticas requiere  $\text{Cl}^-$  y  $\text{K}^+$  citosólicos y es inhibida por bloqueantes de los canales de dichos elementos. Así pues, los canales iónicos de las membranas de los gránulos de zimógeno pancreáticos son elementos esenciales en la exocitosis pancreática (Thevenod, et al., 2000).



La entrada de iones a través de la membrana plasmática vendrá determinada por la apertura de sus canales transportadores localizados en dicha membrana. En este sentido, pensamos que la apertura de estos canales puede ser debida a cambios conformacionales de los constituyentes asociados a la membrana, pudiendo ejercer los lípidos que, procedentes de la dieta, son insertados en la misma, un papel importante. Pues bien, al igual que ocurre en el resto de tipos celulares estudiados, los cambios conformacionales, y en consecuencia funcionales, que se produzcan en estos componentes de membrana posiblemente sean ocasionados por las modificaciones, entre otras, en el ambiente lipídico de la membrana. En este sentido, sugerimos una vez más, que los ácidos grasos ingeridos a través de la dieta pueden provocar cambios estructurales y funcionales en estos canales ligados a membrana, modificando así la entrada de los citados iones y, en consecuencia, provocando gradientes de pH responsables de la movilización de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, con el consiguiente efecto sobre la secreción enzimática.



# MATERIAL Y MÉTODOS



## 1.-MATERIAL DE LABORATORIO

### 1.1.-MATERIAL QUIRÚRGICO

En la siguiente Tabla 4 se expone el material empleado para el sacrificio de los animales y para la extracción del tejido pancreático de los mismos.

MATERIAL QUIRÚRGICO
<i>Tijeras de cirugía rectas</i>
<i>Tijeras de cirugía curvas</i>
<i>Tijeras Mayo</i>
<i>Pinzas para disección: rectas y curvas (punta fina y punta roma)</i>
<i>Pinzas hemostáticas (mosquito) (rectas)</i>
<i>Pinzas de laboratorio (punta fina y curva)</i>
<i>Catéter e hilo para canulación</i>

**Tabla 4:** Listado de material quirúrgico empleado en el proceso de sacrificio y obtención de órganos de conejos experimentales.

### 1.2.-MATERIAL DE VIDRIO

Se muestra en la Tabla 5:

MATERIAL DE VIDRIO
<i>Termómetros de varilla (contenido de mercurio)</i>
<i>Pipetas Pasteur</i>
<i>Pipetas graduadas (0.1, 0.5, 1, 2.5, 5 y 10 ml)</i>
<i>Embudos de rama corta</i>
<i>Vasos de precipitado graduados (de 10, 25, 50, 100, 250, 400, 600, 800 y 1000 ml)</i>
<i>Probetas graduadas (de 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ml)</i>
<i>Matraces aforados (de 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ml)</i>
<i>Frascos topacio con tapón a rosca (de 250, 500 y 1000 ml)</i>
<i>Tubos con tapón a rosca (de 5 y 10 ml)</i>
<i>Microviales para Cromatografía de Gases</i>

**Tabla 5:** Listado de material de vidrio empleado en las diferentes técnicas analíticas

### 1.3.-MATERIAL GENERAL

El material de laboratorio de uso general, empleado habitualmente en las diferentes técnicas analíticas, se adjunta en la Tabla 6:

MATERIAL GENERAL
<i>Puntas de pipetas desechables</i>
<i>Imanes para agitador magnético (revestidos de teflón)</i>
<i>Mechero Bunsen</i>
<i>Espátulas y microespátulas</i>
<i>Gradillas para tubos</i>
<i>Pipeteador electrónico</i>
<i>Tubos eppendorf</i>
<i>Frascos polipropileno</i>

**Tabla 6:** Listado de material general de laboratorio

## 2.-APARATOS

### 2.1.-APARATOS DE USO GENERAL

La conservación de las muestras del tejido pancreático, así como de las alícuotas obtenidas a partir de las distintas disoluciones, empleadas posteriormente en las determinaciones analíticas, se llevó a cabo en un **congelador** de  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , modelo REVCO (VLT-1786-5-VUA). Las diferentes soluciones tampón, y en general las soluciones que debían mantenerse refrigeradas, se guardaron en frascos de plástico, a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , en un **frigorífico** modelo LIEBHERR.

La pesada de muestras y de reactivos sólidos se realizó mediante el empleo de una **balanza de precisión** SCALTEC, Serie STANDARD, modelo SBA-32 (Scaltec Instruments GmbH, Heiligenstadt, Alemania).

El pH de las soluciones tampón se determinó con un **electrodo** combinado **de pH** perteneciente al Sistema de Titración CRISON micro TT 2050 (CRISON, Instruments, S.A.,

Alella, Barcelona). Previo a cada medida, se realizó un calibrado de dicho electrodo, para lo cual se utilizaron dos soluciones de pH conocidas (4,00 y 7,02), elaboradas también por la casa comercial citada anteriormente. Dicho calibrado se consigue de manera automática, en función de la temperatura ambiental.

La agitación de los tubos utilizados en las distintas técnicas analíticas se realizó empleando un **agitador manual**, modelo STUART SCIENTIFIC, AUTOVORTEX MIXER, S.A. (Made in UK).

Las soluciones reactivas, preparadas en matraces aforados y vasos de precipitado, se disolvieron por agitación en un **magnetoagitador** SELECTA, modelo Agimatic-E (Barcelona, España).

La manipulación y homogeneización de las muestras fueron llevadas a cabo en todo momento bajo condiciones adecuadas, para lo cual se conservaron en hielo picado. Éste se generó en una máquina específica, modelo Scotsman, AF-10 (Milán, Italia).

En los ensayos analíticos se emplearon varias **pipetas automáticas** BIOHIT OY (Biohit Proline Pipette, Helsinki, Finland) de 50-200  $\mu$ l, 200-1000 $\mu$ l, 1-5 ml. Tanto las muestras, como la solución madre de cada una de las curvas patrón fueron adicionadas con **microjeringas** Hamilton (Bonaduz, Suiza).

Los baños de incubación utilizados fueron de dos tipos:

1.- Baño de incubación (SELECTA, modelo Tectron 3000543, PACISA), con cubeta de reacción acoplada, 5 litros de capacidad y 67 °C de temperatura máxima, en el cual se realizaron los ensayos analíticos por titrimetría, a pH y temperatura constantes.

2.- Baño de incubación de capacidad mayor (12 litros) y máximo de temperatura a 110 °C (MEMMERT), en el que se incubaron las soluciones reactivas correspondientes a la

determinación de la actividad amilásica, y de la extracción de ácidos grasos de las membranas celulares y subcelulares pancreáticas.

Para la limpieza y desecación del material de laboratorio empleado, se hizo uso de :

- a) Lavavajillas (SMEG, GW 3000 Slassware washer)
- b) Estufa de desecación (MEMMERT, 854 Schwbach, W-Germany)

respectivamente.

## **2.2.-APARATOS DE USO ESPECÍFICO**

### **2.2.1.-HOMOGENEIZACIÓN**

Los homogenados del tejido pancreático se obtuvieron utilizando un sistema de homogeneización, compuesto de una *cuchilla automática*, modelo PT 10-35 (POLYTRON), gracias a la cual las muestras quedaron troceadas en minúsculas fracciones, y de un *homogenizador mecánico*, constituido por un pistilo de teflón (HEIDOLPH RZR1, Colonia, Alemania) y un Potter-Eveljheim de vidrio, de 5 ml de capacidad (AFORA. Madrid, España).

### **2.2.2.-CENTRIFUGACIÓN**

Una vez homogenadas, todas las muestras fueron sometidas a un proceso de centrifugación, para el posterior desarrollo de cada técnica analítica. Las centrifugas empleadas para dicho fin fueron una *centrífuga de mesa refrigerada*, modelo GS-6R, BECKMAN, Fullerton, CA, USA), y una *ultracentrífuga también refrigerada*, modelo L8-M, BECKMAN) con rotor vertical de ángulo fijo VTI 50.

### **2.2.3.-ESPECTROFOTOMETRÍA**

La actividad enzimática de amilasa, así como la concentración de proteínas totales y el contenido en colesterol total de la glándula pancreática, fueron determinadas mediante el



empleo de un espectrofotómetro PERKIN ELMER UV-VIS Lambda 16, que llevaba integrado un paquete de software diseñado para el análisis espectrofotométrico.

#### 2.2.4.-CROMATOGRAFÍA DE GASES

Para la determinación de la composición en ácidos grasos de las membranas celulares y subcelulares del tejido pancreático, se utilizó un cromatógrafo de gases HP (Hewlett Packard), modelo 5890 A (Philadelphia, PA, USA), provisto de un *inyector automático*, HP 7673 A, un *integrador* HP 3393 A, un *detector de ionización de llama* y una *columna capilar* fused silica (sílice fundida), modelo SP™ 2330, SUPELCO, de 60 m de longitud, 0.32 mm de diámetro interno (i.d.), 0.20 mm de espesor de fase estacionaria y 0.20  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula.

#### 2.2.5.-TITRIMETRÍA

La determinación de las actividades enzimáticas tripsina, quimiotripsina, lipasa y colipasa se llevó a cabo mediante Titrimetría a pH constante, para lo cual fue empleado un sistema de titración CRISON micro TT 2050 (CRISON INSTRUMENTS, S.A.), versión ST (titrador estándar) (Figura 12).

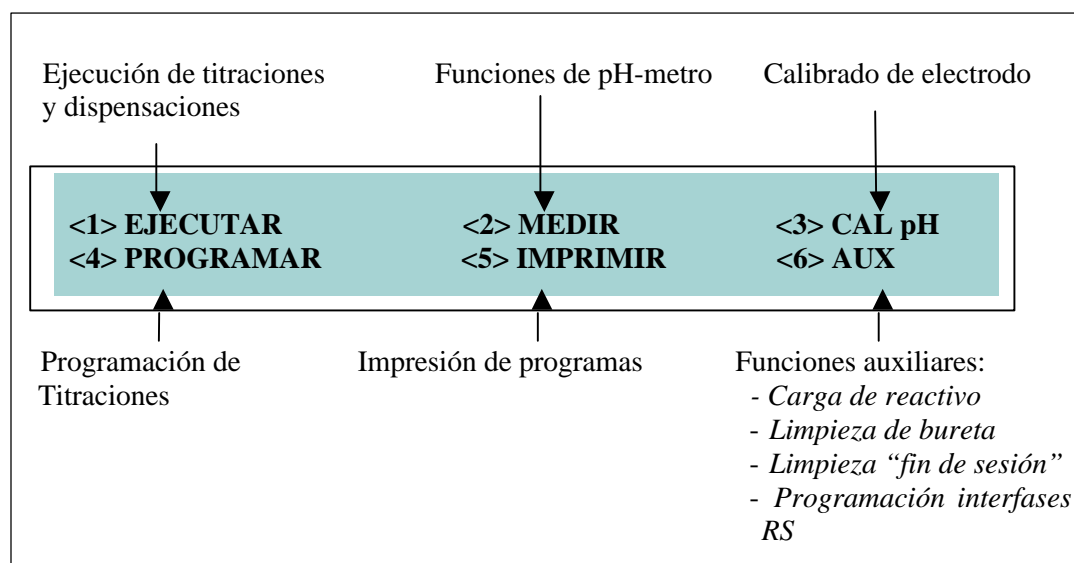


**Figura 12:** Sistema de titración CRISON micro TT 2050 ST

El equipo se compone de una serie de elementos configuradores:

- ' Módulo micro TT 2050, con software ST
- ' Bureta automática microBU 2030 con jeringa de 10 ml
- ' Agitador magnético micro ST 2038
- " Vaso de titración con tapadera
- ' Electrodo de pH combinado
- " Compensador de temperatura automático
- " Impresora gráfica completa

Está controlado por un procesador de 16 bits y presenta una capacidad de memoria para 20 programas y realiza además, otras funciones:



**Figura 13:** Esquema de funciones del sistema de titración (modelo CRISON micro TT 2050) empleado en la determinación de diferentes actividades de enzimas pancreáticas.

#### **Descripción del Test de Titración:**

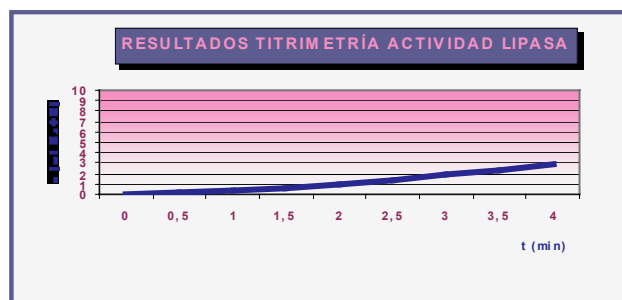
Consiste en una titración potenciométrica ácido-base. La aplicación principal de este sistema en nuestro estudio es la obtención de información acerca de la cinética de reacción de

las distintas enzimas pancreáticas, por neutralización de los H<sup>+</sup> liberados a partir de la hidrólisis del sustrato en cuestión con los OH<sup>-</sup> del reactivo titrante. La programación del tipo de titración STAT (pH fijo) consiste en mantener un valor de pH o mV constante en el transcurso de la reacción, obteniéndose así un estudio de la cinética del sistema, por extracción del consumo de reactivo en función del tiempo.

La Tabla 7 muestra el resultado gráfico (obtenido por impresión) de la actividad lipásica, determinada por titrimetría a pH constante (7.50), de una muestra de homogenado pancreático de conejo. Los resultados imprimidos incluyen: tabla de datos de la titración, resultados y gráfica:

TIEMPO (hhh:mm:ss)	LECTURA pH	LECTURA T <sup>a</sup>	VOLUMEN (ml NaOH)	ADICIÓN (ml NaOH)	DERIV (ml/min)
000:00:00	7,50	27,0	0,000		
000:00:30	7,50	27,0	0,128	0,128	0,256
000:01:00	7,50	27,0	0,344	0,216	0,432
000:01:30	7,50	27,0	0,652	0,308	0,616
000:02:00	7,50	27,0	1,012	0,36	0,72
000:02:30	7,50	27,0	1,420	0,408	0,816
000:03:00	7,50	27,0	1,888	0,468	0,936
000:03:30	7,50	27,0	2,384	0,496	0,992
000:04:00	7,50	27,0	2,916	0,532	1,064

**Tabla 7:** Potenciometría ácido-base. Plantilla de resultados obtenidos por titrimetría a pH constante, para el cálculo de actividad enzimática.



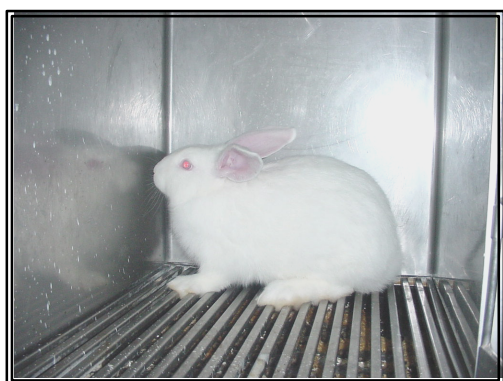
**CRISON**

**Figura 14:** Representación gráfica del volumen de reactivo titrante (ml NaOH) gastado por unidad de tiempo (min.) (Determinación de actividad lipásica pancreática).

### 3.-MATERIAL BIOLÓGICO

#### 3.1.-ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Para la realización del trabajo experimental se emplearon conejos de raza New Zealand, del mismo sexo (machos), y con pesos corporales comprendidos entre 3 y 3.5 Kg (Fotografía 1).



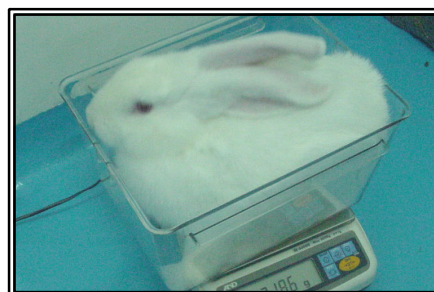
**Fotografía 1:** Conejo de la raza New Zealand, de peso aproximado 3-3.5 kg, empleado en el diseño experimental.

Los animales fueron alojados en jaulas individuales, disponiendo de acceso libre, tanto al agua como a la comida (Fotografía 2). La habitación en la que se ubicaron las jaulas estaba termorregulada a  $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , y sometida a un fotoperiodo de 12 horas de luz (8.00-20.00) y 12 horas de oscuridad (20.00-8.00), así como a un ambiente de humedad relativa del 60 %.



**Fotografía 2:** Equipo de jaulas empleadas para la ubicación de los animales, los cuales estuvieron sometidos a un estricto control veterinario.

Diariamente les fue administrada la cantidad de 150 g de dieta y agua “*ad libitum*”. Se realizó un control diario de la ingesta a cada conejo, pesando los restos de comida no consumida. A continuación, éstos eran desechados. Asimismo, los animales fueron sometidos a un control de peso semanal (Fotografía 3).



**Fotografía 3:** Control de peso de los animales.

### 3.2.-DIETAS

#### 3.2.1.-DIETA ESTÁNDAR

NUTRIENTES	% EN PESO
<i>Proteína bruta</i>	13.3
<i>Materia grasa bruta</i>	3.1
<i>Fibra bruta</i>	15.4
<i>Cenizas brutas</i>	7
<i>Glúcidos</i>	50.2
<i>Calcio</i>	0.97
<i>Humedad</i>	11
<i>Sodio</i>	0.20
VITAMINAS ADICIONADAS	UI/Kg
<i>Vitamina A</i>	9350
<i>Vitamina D</i>	1030
<i>Vitamina E (mg)</i>	26

**Tabla 8:** Composición y vitaminas adicionadas en la dieta de mantenimiento.

Suministrada por la casa comercial *Panlab* (Barcelona), estaba constituida exclusivamente por pienso de mantenimiento para conejos (2500 kcal/kg). En la Tabla 8 se indican los componentes de la misma, así como las cantidades de vitaminas A, D y E adicionadas.

**3.2.2.-DIETA ATEROGÉNICA**

Presentó en su composición un 95 % de la dieta estándar, un 3.5 % de manteca de cerdo (alto contenido en ácidos grasos saturados) y un 1.5 % de colesterol. El contenido en grasa total de la misma fue de un 7.90 % (% en peso).

	<b>DIETA ESTÁNDAR</b>	<b>DIETA ATEROGÉNICA</b>
<i>C12:0</i>	0.20	0.18
<i>C14:0</i>	0.34	1.04
<i>C15:0</i>	0.21	0.17
<i>C15:1</i>	0.19	0.13
<i>C16:0</i>	21.64	22.71
<i>C16:1 (n-9)</i>	1.08	1.35
<i>C17:0</i>	0.18	0.33
<i>C17:1 (n-9)</i>	1.48	0.69
<i>C18:0</i>	3.26	9.28
<i>C18:1 (n-9)</i>	27.74	30.04
<i>C18:2 (n-6)</i>	34.33	28.45
<i>C20:0</i>	0.69	0.44
<i>C18:3 (n-3)</i>	2.66	2.25
<i>C20:1 (n-9)</i>	1.10	0.80
<i>C21:0</i>	0.56	0.37
<i>C20:2 (n-6)</i>	0.26	0.38
<i>C20:4 (n-6)</i>	0.00	0.14
<i>C20:3 (n-3)</i>	0.17	0.12
<i>C20:5 (n-3)</i>	0.58	0.00
<i>C24:0</i>	0.32	0.47
<i>C24:1</i>	0.00	0.09
<i>C22:4 (n-6)</i>	0.63	0.00
<i>C22:6 (n-3)</i>	0.57	0.32
<i>SFA</i>	28.02	35.18
<i>MUFA</i>	32.79	33.15
<i>PUFA</i>	39.19	31.66
<i>PUFA (n-6)</i>	34.95	28.60
<i>PUFA&gt;18C (n-6)</i>	0.63	0.14
<i>PUFA (n-3)</i>	3.98	2.68
<i>PUFA&gt;18C (n-3)</i>	1.32	0.44

**Tabla 9:** Perfil de ácidos grasos de las dietas estándar y aterogénica.

### 3.2.3.-DIETAS DE RECUPERACIÓN

Compuestas por un 98.25 % de dieta estándar (de mantenimiento) y un 1.75 % de aceite de recuperación, diferente para cada grupo. Así, se emplearon aceites de oliva virgen, oliva refinado, girasol y pescado, para los grupos experimentales oliva virgen (V), oliva (O), girasol (G) y pescado (P), respectivamente. La composición en grasa total para esta dieta fue del 4.79 % (% en peso).

Todas las dietas fueron elaboradas a partir del preparado estándar comercial, en el Departamento I + D, de Abbot Laboratories.

Los aceites vegetales llevaban en su composición cantidades variables de  $\alpha$ -tocoferol, que se muestran en la Tabla 10:

<i>ACEITE</i>	<i>mg/Kg</i>
<b>Oliva virgen</b>	<b>404</b>
<b>Oliva refinado</b>	<b>209</b>
<b>Girasol</b>	<b>1420</b>

**Tabla 10:** Contenido en  $\alpha$ -tocoferol de los distintos aceites vegetales empleados.

El aceite de pescado se estabilizó con la adicción de 1000 mg/Kg de vitamina E, con objeto de evitar un proceso de autooxidación de sus ácidos grasos.

Se realizó asimismo un acidograma del perfil de ácidos grasos de los distintos aceites empleados, que se recoge en la Tabla 11:

ÁCIDOS GRASOS	ACEITES			
	Oliva virgen	Oliva	Girasol	Pescado
16:0	9.81	9.66	6.35	19.01
16:1 (n-9)	0.63	0.73	0.12	11.13
18:0	3.96	3.73	4.37	5.11
18:1 (n-9)	76.75	78.08	31.19	12.42
18:2 (n-6)	6.81	5.43	55.92	4.25
18:3 (n-3)	0.66	0.64	0.07	0.11
20:1 (n-9)	0.28	0.27	0.17	2.23
20:2 (n-6)	0.19	0.61	0.09	3.31
20:5 (n-3)	0.03	0.02	0.03	15.94
22:6 (n-3)	0.05	0.05	0.12	6.68
SFA	14.02	13.64	10.87	36.81
MUFA	77.67	79.07	31.48	30.14
PUFA	8.31	7.29	57.65	33.12
PUFA>18C (n-6)	0.36	0.77	0.96	3.75
PUFA>18C (n-3)	0.08	0.07	0.15	24.28

**Tabla 11:** Composición en ácidos grasos de los distintos aceites empleados. Los datos se expresan en porcentajes. Índices: ácidos grasos saturados totales (SFA); ácidos grasos monoinsaturados totales (MUFA); ácidos grasos poliinsaturados totales (PUFA); ácidos grasos poliinsaturados mayores de 18 átomos de carbono de la serie n-6 (PUFA >18 C n-6); ácidos grasos poliinsaturados mayores de 18 átomos de carbono de la serie n-3 (PUFA >18 C n-3).

#### 4.-DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó una distribución al azar de 30 conejos macho, de raza New Zealand y con peso aproximado de 3.5 Kg en 5 grupos (n=6). A todos les fue suministrada una dieta aterogénica, rica en grasa saturada y colesterol, durante un periodo de 50 días. Una vez finalizado dicho periodo experimental, fue sacrificado un grupo de 6 conejos.

A continuación, y durante 30 días más, los 4 grupos restantes fueron alimentados con distintas dietas, que se diferenciaban entre sí en el perfil de ácidos grasos de las distintas fuentes grasas empleadas.

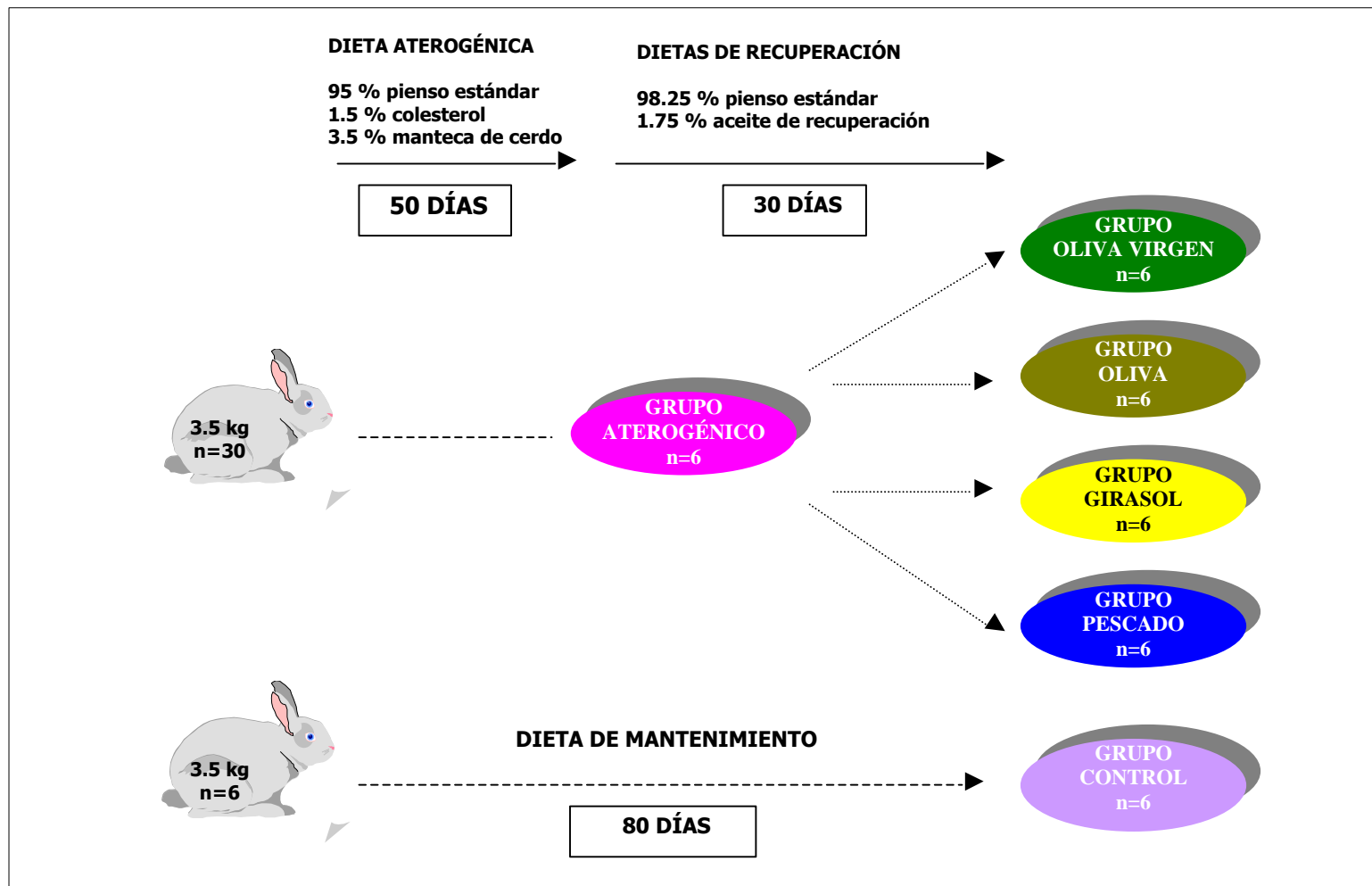
Paralelamente, y a lo largo de todo el periodo experimental, se suministró una dieta estándar a un grupo control sano (n=6) (Figura 15).



Los diferentes grupos experimentales quedaron configurados de la siguiente manera:

- a) **Grupo Aterogénico (A) ( $n=6$ ):** Constituido por conejos alimentados con una dieta aterogénica, rica en grasa saturada y colesterol, durante un periodo experimental de 50 días.
  
- b) **Grupo Oliva Virgen (V) ( $n=6$ ):** Constituido por conejos alimentados con una dieta aterogénica, rica en grasa saturada y colesterol, durante un periodo experimental de 50 días. A lo largo de los siguientes 30 días, los animales consumieron una dieta de recuperación, que consistió en una dieta estándar suplementada con un 1.75 % de aceite de oliva virgen.
  
- c) **Grupo Oliva (O) ( $n=6$ ):** Constituido por conejos alimentados con una dieta aterogénica, rica en grasa saturada y colesterol, durante un periodo experimental de 50 días. A lo largo de los siguientes 30 días, los animales consumieron una dieta de recuperación, que consistió en una dieta estándar suplementada con un 1.75 % de aceite de oliva refinado.
  
- d) **Grupo Girasol (G) ( $n=6$ ):** Constituido por conejos alimentados con una dieta aterogénica, rica en grasa saturada y colesterol, durante un periodo experimental de 50 días. A lo largo de los siguientes 30 días, los animales consumieron una dieta de recuperación, que consistió en una dieta estándar suplementada con un 1.75 % de aceite de girasol.
  
- e) **Grupo Pescado (P) ( $n=6$ ):** Constituido por conejos alimentados con una dieta aterogénica, rica en grasa saturada y colesterol, durante un periodo experimental de 50 días. A lo largo de los siguientes 30 días, los animales consumieron una dieta de recuperación, que consistió en una dieta estándar suplementada con un 1.75 % de aceite de pescado.

- f) **Grupo Control Sano (C) ( $n=6$ ):** Constituido por conejos alimentados con una dieta estándar durante todo el periodo experimental (80 días).



**Figura 15:** Diseño experimental



## 5.-SACRIFICIO DE ANIMALES Y OBTENCIÓN DE ÓRGANOS

Una vez finalizado el periodo experimental, los animales de cada grupo fueron anestesiados con pentotal sódico, en cantidades aproximadas a 10 ml, de una disolución 1/100 ( $\cong$ 1 mg/Kg.). Las dosis se inyectaron a través de la vena marginal de la oreja izquierda (Fotografía 4).



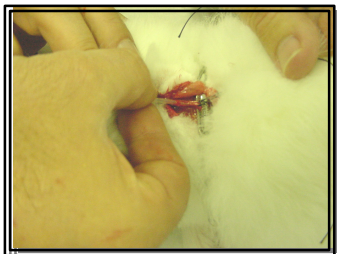
**Fotografía 4:** Inyección de anestesia, a través de la vena marginal de la oreja en conejo.

Posteriormente, cada animal fue sacrificado por desangrado, para lo cual se llevó a cabo la separación del nervio vago de la arteria carótica primitiva (Fotografía 5) y la posterior canulación de la misma (Fotografía 6). A continuación, una vez desangrado, se procedió al afeitado del campo operatorio, la colocación del animal en posición *decúbito supino*, fijándose a la mesa de operaciones, y la extracción final del páncreas, para lo cual:

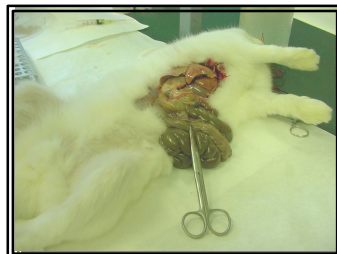
- Se procedió al abordaje de la cavidad abdominal y sección del peritoneo (Fotografía 7).
- Se accedió al páncreas, que se separó del bazo, de la curvatura mayor del estómago, del colon transversal y del duodeno, mediante extracción del tejido conectivo laxo, que engloba al tejido pancreático y lo adhiere al resto de órganos adyacentes (Fotografía 8, 9, 10). Una vez extraído fue limpiado de tejido conectivo y grasa, lavándolo finalmente con suero fisiológico (ClNa al 0.9%) (Fotografía 11). Por último, fue pesado, dividido en varios trozos de pesos similares y guardado bajo congelación a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , para su posterior utilización en diversas determinaciones analíticas.



**Fotografía 5:** Separación del nervio vago de la arteria carótida, previa a su canulación.



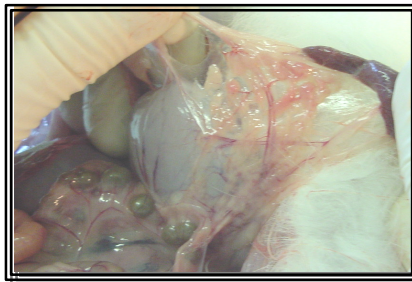
**Fotografía 6:** Canulación de la arteria carótida (previa al desangrado del animal).



**Fotografía 7:** Abordaje de la cavidad abdominal y sección peritoneal



**Fotografía 8:** Tejido pancreático, que en conejo es difuso. Se encuentra inervado, irrigado y rodeado de tejido conectivo laxo.



**Fotografía 9:** Separación del tejido pancreático de bazo, estómago y duodeno.



**Fotografía 10:** Páncreas extraído, junto con tejido conectivo y graso (previo a su limpieza).



**Fotografía 11:** Tejido pancreático limpio de grasa y de tejido conectivo, lavado con suero fisiológico (ClNa al 0.9%).

## 6.-LISTADO DE REACTIVOS EMPLEADOS

A continuación se adjuntan los reactivos utilizados en las diferentes técnicas analíticas, indicando para cada uno de ellos, la casa comercial por la que fueron suministrados:

### 6.1.-ACTIVIDAD AMILÁSICA

Fosfato di-sódico anhidro ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ); *ref. 131679*, PANREAC QUÍMICA, S.A. (Barcelona, España)

Fosfato monosódico, cristalizado (purísimo) ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ); *ref. 141677*, PANREAC

Cloruro sódico al 99 % ( $\text{NaCl}$ ); *ref. S-7653*, SIGMA CHEMICAL CO (St Louis MO, EEUU)

Hidróxido sódico en pastillas ( $\text{NaOH}$ ); *ref. 131687*, PANREAC

3,5-ácido dinitrosalicílico ( $\text{C}_7\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_7$ ); *ref. D-0550*, SIGMA

Tartrato sódico-potásico al 99 % ( $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6\text{H}_2\text{O}$ ); *ref. S-6170*, SIGMA

Almidón soluble (de patata); *ref. S-2630*, SIGMA

Maltosa monohidratada (min. 99%); *ref. M-5885*, SIGMA

### 6.2.-ACTIVIDAD TRÍPSICA

Trizma Base (Tris hydroxymethyl amino methane) ( $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ ); *ref. T-6791*, SIGMA

Cloruro sódico al 99 % ( $\text{NaCl}$ ); *ref. S-7653*, SIGMA

Cloruro cálcico dihidrato al 99 % ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ); *ref. C-5080*, SIGMA

Hidróxido sódico (0.1 N) en ampollas (Titrisol); *ref. 109959*, MERCK (Darmstadt, Alemania)

BAEE (N-benzoil-L-arginina etil éster); *ref. B-4500*, SIGMA

Enterokinasa de páncreas porcino (EC 3.4.21.9); *ref. E-0632*, SIGMA

### 6.3.-ACTIVIDAD QUIMIOTRÍPSICA

Fosfato potásico dihidrógeno ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ); *ref. 104873*, MERCK

Potasio fosfato dibásico (purísimo) ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ); *ref. 121512*, PANREAC

Trizma Base (Tris hydroxymethyl amino methane) ( $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ ); *ref. T-6791*, SIGMA

Cloruro sódico al 99 % (NaCl); *ref. S-7653, SIGMA*

Hidróxido sódico en ampollas (0.1 N); *ref. 109959, MERCK*

ATEE (N-acetil-L-tirosina etil éster); *ref. A-6751, SIGMA*

Tripsina de páncreas porcino (EC 3.4.21.4); *ref. T-7418, SIGMA*

#### **6.4.-ACTIVIDADES LIPÁSICA Y COLIPÁSICA**

Tris Maleato (C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>); *ref. T-3128, SIGMA*

Cloruro sódico al 99 % (NaCl); *ref. S-7653, SIGMA*

Cloruro cálcico dihidrato (CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O); *ref. C-5080, SIGMA*

Taurodeoxicolato sódico (NaTDC), min. 97%; *ref. T-0875, SIGMA*

Tributirina (Tributyrylglycerol o glyceryl tributirate, aprox. 99%) (C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>6</sub>); *ref. T-8626, SIGMA*

Lipasa de páncreas porcino (EC 3.1.1.3); *ref. L-0382, SIGMA*

Colipasa de páncreas porcino; *ref. C-3028, SIGMA*

#### **6.5.-PROTEÍNA TOTAL**

Hidróxido sódico en ampollas (0.1 N); *ref. 109959, MERCK*

Carbonato sódico anhidro (purísimo) (CNa<sub>2</sub>O<sub>3</sub>); *ref. 106398, MERCK*

Sulfato de cobre pentahidratado (SO<sub>4</sub>Cu<sub>2</sub>.5H<sub>2</sub>O); *ref. 131270, PANREAC*

Tartrato sódico (C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>6</sub>); *ref. 121720, PANREAC*

Reactivo comercial de Folin-Ciocalteu; *ref. 251567, PANREAC*

Albúmina sérica bovina; *ref. A-7906, SIGMA*

#### **6.6.-TRANSESTERIFICACIÓN Y METILACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS**

Trizma Base (Tris hydroxymethyl amino methane) (C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>); *ref. T-6791, SIGMA*

Cloruro sódico al 99 % (NaCl); *ref. S-7653, SIGMA*

Metanol (para análisis) (CH<sub>3</sub>OH); *ref. 221091, PANREAC*

Benceno (para análisis) (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>); *ref. 131192, PANREAC*



Cloruro de acetilo ( $\text{CH}_3\text{COCl}$ ); *ref. 100031*, MERCK

Carbonato potásico (purísimo) ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ); *ref. 141490*, PANREAC

Nitrógeno industrial (B50); AL AIR LIQUIDE ESPAÑA, S.A. (Madrid, España)

n-Hexano ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ ); *ref. 142063*, PANREAC

## **6.7.-COLESTEROL TOTAL**

Kit enzimático-colorimétrico MPR 1 (*ref 1 442 341*) 10 x 32 ml, MPR 2 (*ref 1 442 350*) 10 x 100 ml, MPR 3 (*ref 236 691*) 4 x 500 ml. BOEHRINGER MANNHEIM (Alemania).

## **7.-DETERMINACIONES ANALÍTICAS**

Fueron realizadas en los homogenados de tejido pancreático, empleando para cada actividad enzimática el tampón correspondiente. La concentración final de estos homogenados fue de 60 mg/ml.

### **7.1.-ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS**

#### **7.1.1.-AMILASA (EC 3.2.1.1.)**

El procedimiento correspondiente a la determinación de la actividad de esta enzima consiste en la hidrólisis de un sustrato de almidón soluble, llevada a cabo por dicha enzima, y posterior valoración de la maltosa liberada, según la técnica descrita por NOELTING Y BERNFIELD (1948), y modificada por HICKSON (1970). Los resultados se expresan en unidades de actividad amilásica, según el último autor. En la Tabla 12 se detalla la composición del tampón empleado para la determinación de la citada actividad enzimática:

TAMPÓN FOSFATO SÓDICO 0.2 M; 0.0067 M ClNa, pH 7.05	
<i>Solución 1: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O bidestilada</i>	<b>28,41/hasta 1000</b>
<i>Solución 2: NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O</i>	<b>31,206/hasta 1000</b>
<i>Solución 3: NaCl/H<sub>2</sub>O</i>	<b>3,916/hasta 100</b>
<i>Solución 4: Solución 1 + Solución 3/H<sub>2</sub>O</i>	<b>100+10/hasta 1000</b>
<i>Solución 5: Solución 2 + Solución 3/H<sub>2</sub>O</i>	<b>100 + 10/hasta 1000</b>
<i>Solución final: Solución 4 + Solución 5</i>	<b>1000 + ml necesarios hasta ajustar pH</b>

**Tabla 12:** Composición de tampón fosfato sódico 0.2 M; 0.0067 M de ClNa, pH 7.05 (determinación de ACTIVIDAD AMILÁSICA).

#### **7.1.2.-TRIPSINA (EC 3.4.21.4.) Y QUIMIOTRIPSINA (EC 3.4.21.1.)**

Previo al desarrollo de la técnica para la determinación de las actividades de tripsina y quimiotripsina, se llevó a cabo la activación de las mismas, ya que en tejido pancreático se encuentran como proenzimas o zimógenos, esto es, como precursores inactivos (tripsinógeno y quimiotripsinógeno, respectivamente).

El proceso de activación del tripsinógeno contenido en la muestra se realizó por incubación de la misma con enterokinasa de páncreas porcino. Se partió, como hemos citado, de 100 µl de homogenado de muestra, a una concentración de 60 mg/ml, preparado a partir de 0.3 g de tejido pancreático en 5 ml de tampón fosfato potásico 0.2 M, pH 7.60, que se incubó a 37 °C y durante 30 min con 200 µl de enterokinasa de páncreas porcino (EC 3.4.21.9), a una concentración de 2.5 mg/ml, en buffer TRIS, 0.005 M; NaCl 0.04; pH 7.90.

Para la activación del quimiotripsinógeno se partió igualmente de 100 µl de homogenado de muestra preparada asimismo a partir de 0.3 g de tejido pancreático en 5 ml de tampón fosfato potásico, 0.2 M; pH 7.60, incubándose a 37 °C y durante 30 min con 200 µl de tripsina de páncreas porcino (EC. 3.4.21.4), preparada a una concentración de 2 mg/ml, en buffer TRIS, 0.005 M; NaCl 0.04; pH 7.90.

Tras varias pruebas, basadas en diferentes trabajos (Tseng, et al., 1982; Houghton, et al., 1983; Mizoguchi and Imamichi, 1986; Ricketts and Brannon, 1994) se eligieron las concentraciones indicadas de enterokinasa y de tripsina, así como los tiempos de incubación de las mismas empleados, por ser los más óptimos para los objetivos que pretendíamos con el tejido y la cantidad utilizados.

Una vez activadas las enzimas, se procedió a la determinación de sus actividades, mediante el método descrito por REBOUD et al. (1962), realizada por titrimetría a pH constante (7.90) y 27 °C de temperatura, con NaOH 0.005 N, valorándose los H<sup>+</sup> liberados, para lo cual se empleó el Titrador micro TT 2050 CRISON, expuesto en el apartado correspondiente al material de laboratorio.

En el ensayo de la actividad de quimiotripsina, el volumen final de la reacción contenía:

- ★ 15 ml de tampón TRIS (0.005 M), NaCl (0.04 M), pH 7.90.
- ★ 0.5 ml de sustrato preparado a partir de una solución de ATEE (N-acetil-L-tirosina etil éster), en una mezcla de agua-metanol (50 % v/v), a una concentración de 251 mg/10 ml.
- ★ 0.1 ml de homogenado de muestra, a una concentración de 60 mg/ml de tampón fosfato potásico 0.2 M, pH 7.60.

Las unidades de expresión de actividad quimiotrípica vienen definidas como micromoles de ATEE hidrolizados por minuto y ml de muestra, a 27 °C.

En la Tabla 13 se refleja la composición de los tampones TRIS y Fosfato, empleados en la determinación de quimiotripsina:

TAMPÓN TRIS 0.005 M; 0.004 M ClNa; pH 7.90		TAMPÓN FOSFATO POTÁSICO 0.2 M; pH 7.60	
<i>TRIZMA BASE</i>	<b>0,6055 g</b>	<i>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(anhidro)</i>	<b>34,036 g</b>
<i>NaCl</i>	<b>2,34 g</b>	<i>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></i>	<b>27,836 g</b>
<i>H<sub>2</sub>O bidestilada</i>	<b>1000 ml</b>	<i>H<sub>2</sub>O bidestilada</i>	<b>1000 ml</b>

**Tabla 13:** Composición de los tampones empleados en la determinación de la ACTIVIDAD QUIMIOTRÍPSICA

Para la determinación de la actividad de tripsina, la solución final de ensayo contenía:

- ★ 10 ml de tampón TRIS (0.005 M), Na Cl (0.04 M), CaCl<sub>2</sub> (0.02 M), pH 7.90
- ★ 10 ml de sustrato: solución de BAEE (N- $\alpha$ -benzoyl-L-arginina etil éster), en agua bidestilada, a una concentración de 0.0686 g/100 ml.
- ★ 0.1 ml de muestra, cuyo homogenado se preparó en condiciones semejantes a las empleadas para la determinación de la actividad quimiotrípica.

Las unidades de actividad trípica vienen definidas como micromoles de BAEE hidrolizados por minuto y ml de muestra, a 27 °C.

La Tabla 14 refleja la composición del tampón TRIS empleado para la determinación de la actividad trípica:

<b>TAMPÓN TRIS 0.005 M; 0.04 M ClNa; 0.02 M Cl<sub>2</sub>Ca, pH 7.90</b>	
<b>TRIZMA BASE</b>	<b>0,6055 g</b>
<b>NaCl</b>	<b>2,34 g</b>
<b>Cl<sub>2</sub>Ca.2H<sub>2</sub>O</b>	<b>2,942 g</b>
<b>H<sub>2</sub>O bidestilada</b>	<b>1000 ml</b>

**Tabla 14:** Composición del tampón empleado para la determinación de la ACTIVIDAD TRÍPSICA.

### **7.1.3.-LIPASA (EC 3.1.1.3.) Y COLIPASA**

Ambas actividades fueron determinadas según la técnica de ERLANSON-ALBERTSSON et al. (1987), basada en una titrimetría a pH constante (7.50) y 27 °C de temperatura, con NaOH 0.005 N, y utilizando tributirina como sustrato. Se valoraron los H<sup>+</sup> liberados (Titrador micro TT 2050, CRISON).

La reacción que determinó la actividad lipásica se llevó a cabo a partir de:

- ★ 15 ml de tampón TRIS-Maleato (2 Mm), NaCl (150 Mm), CaCl<sub>2</sub> (1 mM) y taurodeoxicolato sódico (4 mM).
- ★ 0.5 ml de sustrato: tributirina (C<sub>4</sub>:O) (SIGMA).
- ★ 10 µg de colipasa de páncreas porcino (SIGMA).
- ★ 0.1 ml de homogenado de muestra en buffer TRIS-Maleato, a 60 mg/ml de concentración.

La actividad colipásica fue determinada partiendo de las mismas cantidades de tampón y de sustrato empleados para la lipasa, diferenciándose sin embargo en la posterior adición simultánea de 0.1 ml de muestra y de 40 U de lipasa de páncreas porcino.

Las unidades de actividad de ambas enzimas, lipasa y colipasa, se definen como micromoles de ácidos grasos liberados por minuto y por ml de muestra, a 27°C.

En la Tabla 15 se indica la composición del tampón empleado en la determinación de las actividades lipasa y colipasa:

TAMPÓN TRIS /Maleato 2 mM; 150 mM NaCl; 1 mM CaCl <sub>2</sub> y 4 mM NaTDC; pH 7.50	
<i>TRIS/Maleato</i>	<b>0,4744 g</b>
<i>NaCl</i>	<b>8,775 g</b>
<i>Cl<sub>2</sub>Ca.2H<sub>2</sub>O</i>	<b>0,147 g</b>
<i>NaTDC</i>	<b>2,0868 g</b>
<i>H<sub>2</sub>O bidestilada</i>	<b>1000 ml</b>

**Tabla 15:** Composición del tampón empleado para la determinación de las ACTIVIDADES DE LIPASA Y COLIPASA.

Puesto que la actividad lipásica valora la cantidad de ácidos grasos libres desde una emulsión de tributirina o trioleína, se suelen emplear ácidos biliares con objeto de lograr cinéticas de orden cero. Cuando la concentración micelar de las sales biliares es superior a su concentración micelar crítica, provocan una fuerte inhibición de la lipasa pancreática. En este sentido, la colipasa interviene como cofactor, liberando a la lipasa de dicha inhibición. Es por ello que diversos autores recomiendan la determinación de la actividad lipásica en presencia de

sales biliares y con un exceso de colipasa (Rathelot, et al, 1975; Lairon, et al., 1987; Wicker and Puigserver, 1987).

#### **7.1.4.-PROTEÍNA TOTAL**

La concentración de proteína total se determinó por la técnica de Lowry et al (1951), basada en dos reacciones complementarias:

- a.- BIURET, característica de grupos NH<sub>3</sub> y que da color violeta.
- b.- FOLIN, típica de grupos OH reductores (grupos fenólicos) y que da color azul.

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado y la marcha analítica fue la siguiente:

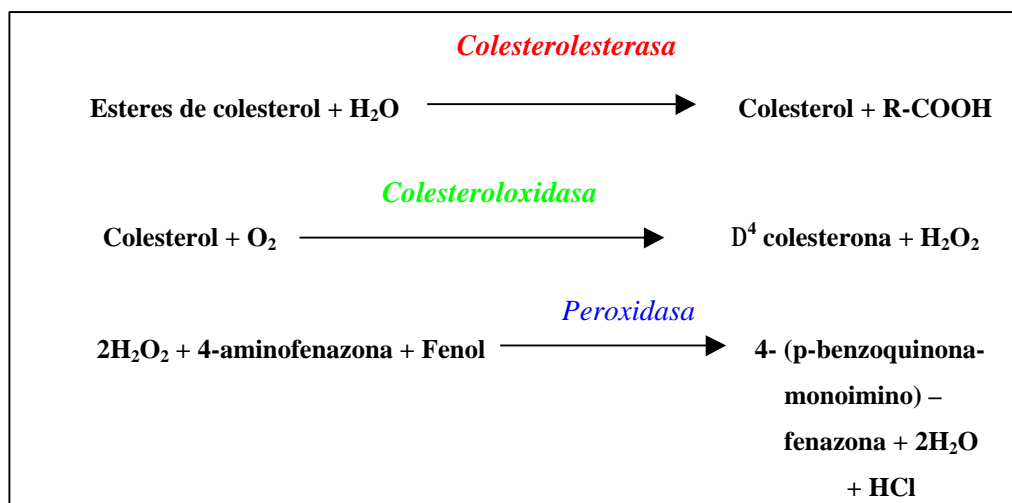
- ✓ 0,995 ml agua bidestilada
- ✓ 0,005 ml muestra bien agitada
- ✓ 5 ml de reactivo de Biuret. Agitar todo y dejar incubar 15 minutos a T<sup>a</sup> ambiente
- ✓ 0,5 ml de reactivo comercial de Folin diluído a la mitad. Agitar y dejar incubar durante de 20 a 30 minutos, a T<sup>a</sup> ambiente y en la oscuridad.
- ✓ Lectura de la absorbancia a 640 nm, por espectrofotometría, empleando cubetas de 1 cm de espesor.

Los resultados se expresaron en mg/ml de muestra ensayada.

#### **7.2.-CONTENIDO EN COLESTEROL TOTAL**

El análisis de colesterol total se realizó mediante el empleo de kits comerciales enzimático- colorimétricos (CHO-PAP), basados en el método descrito por Siedel, et al. (1983), Kattermann, et al., (1984) y Trinder (1969). Las muestras se obtuvieron, como en el resto de determinaciones analíticas, a partir de homogenados de tejido pancreático (60 mg/ml).

Las reacciones que tienen lugar son las reflejadas en la Figura 16:



**Figura 16:** Reacciones enzimático-colorimétricas que tienen lugar en la determinación de colesterol total, mediante kit comercial.

A las soluciones reactivas se les añadieron diferentes cantidades de muestra, ajustadas a cada caso. A continuación fueron incubadas a 37 °C durante 5 minutos en un baño de agua, con agitación constante, midiendo posteriormente la absorbancia por espectrofotometría, a 500 nm de longitud de onda, empleando cubetas de 1 cm de espesor.

Los valores de concentración de colesterol se determinaron por extrapolación de datos de rectas patrón construidas a partir de una solución estándar de colesterol. Los resultados se expresaron como mmol/l.

A continuación se detallan los valores de colesterol y TG, expresados en mg/dl y en mmol/l, que determinan un trastorno lipídico, según las Recomendaciones de la Sociedad Europea de Aterosclerosis (1987) (Tabla 16).

		<b>Trastornos lipídicos</b>
<b>Colesterol</b> <b>Triglicéridos</b>	< 200 mg/dl < 200 mg/dl	<b>NO</b>
<b>Colesterol</b>	200-300 mg/dl	<b>SÍ</b> con HDL-colesterol < 35 mg/dl
<b>Colesterol</b> <b>Triglicéridos</b>	> 300 mg/dl > 200 mg/dl	<b>SÍ</b>
<b>Colesterol</b> 35 mg/dl = 0.9 mmol/l 200 mg/dl = 5.2 mmol/l 300 mg/dl = 7.8 mmol/l		<b>Triglicéridos</b> 200 mg/dl = 2.3 mmol/l

**Tabla 16:** Interpretación clínica de los trastornos lipídicos (según Recomendaciones de la Sociedad Europea de Aterosclerosis, 1987).

### 7.3.-PERFIL LIPÍDICO DE MEMBRANAS PANCREÁTICAS

#### 7.3.1.-OBTENCIÓN DE FRACCIONES CELULARES

Para la obtención de las distintas fracciones celulares, se empleó el método de Fleischer, S., et al. (1979). A partir del homogenado pancreático se procedió a una primera centrifugación, a 1750 x g y a 4°C, durante 10 minutos. El precipitado obtenido, que contiene membranas plasmáticas celulares y endomembranas, fundamentalmente nucleares y mitocondriales, fue resuspendido en 0.5 ml de tampón TRIS 0.005 M, 0.004 M ClNa (pH 7.90), empleado para la determinación de actividad quimiopéptica. Dicho precipitado se guardó en tubos eppendorff y se congeló a -80°C, para su posterior utilización. El sobrenadante obtenido fue filtrado, con objeto de eliminar restos de grasa y tejido, centrifugándolo a continuación a 5000 x g y 4°C, durante 20 minutos, separando y eliminando el precipitado. El sobrenadante resultante de esta segunda centrifugación fue sometido a una tercera, a 8000 x g y 4°C, durante 10 minutos, tras lo cual se separó el sobrenadante, que fue centrifugado en ultracentrífuga, a 82000 x g y 4°C, durante 45 minutos, de la cual se obtuvieron las fracciones citosólica (sobrenadante), que fue



eliminada, y microsomal (precipitado). Esta última fue resuspendida en 0.5 ml de tampón y guardada en viales eppendorff, a  $-80^{\circ}\text{C}$ , para su posterior utilización.

### ***7.3.2.-EXTRACCIÓN LIPÍDICA Y METILACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS***

Para la determinación del perfil lipídico correspondiente a las membranas celulares y subcelulares del tejido pancreático, se siguió el método descrito por Lepage y Roy (1986), a través del cual se llevaron a cabo los procesos de extracción lipídica y transesterificación de ácidos grasos, en una única etapa. Se emplearon las siguientes soluciones reactivas:

- 1) Mezcla metanol-benceno, en proporción 4:1 (v/v)
- 2) Carbonato potásico ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) al 6% en  $\text{H}_2\text{O}$  bidestilada
- 3) Estándar interno: ácido pentadecanoico (C15:0), 0.4 mg/ml de hexano
- 4) Estándar externo: solución patrón de diversos ácidos grasos, incluyendo desde 14:0 hasta 22:6n-3

#### ***Descripción del método seguido:***

A 100  $\mu\text{l}$  de muestra se añadieron 4 ml de la mezcla metanol-benceno (que van a provocar la extracción de ácidos grasos), agitando a continuación, durante 30 seg. Posteriormente se adicionaron, bajo campana de extracción de gases, lentamente y en agitación constante, 200  $\mu\text{l}$  de cloruro de acetilo. Seguidamente, los tubos se cerraron herméticamente y fueron introducidos en un baño de agua, donde permanecieron en incubación, a  $100^{\circ}\text{C}$ , durante 1 hora. Transcurrido ese tiempo, se introdujeron en hielo picado hasta conseguir su enfriamiento, tras lo cual se añadieron 2 ml de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  al 6 %, (solución empleada con objeto de detener la reacción y de neutralizar la mezcla) y se agitó nuevamente durante 1 min. El paso siguiente fue una centrifugación a  $1700 \times g$ , a  $4^{\circ}\text{C}$  y durante 10 min. A continuación, y utilizando pipetas Pasteur fue recogida la fase bencénica, en la que permanecen los ésteres metílicos de los ácidos grasos. Se llevaron a otros tubos de vidrio y se sometieron a evaporación con  $\text{N}_2$ .

### 7.3.3.-CROMATOGRAFÍA DE GASES DE LOS ÉSTERES METÍLICOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Una vez evaporadas las muestras bajo N<sub>2</sub>, fueron resuspendidas en 100 µl de hexano y guardadas en microviales. A partir de ellas se realizó la cuantificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos por cromatografía de gases.

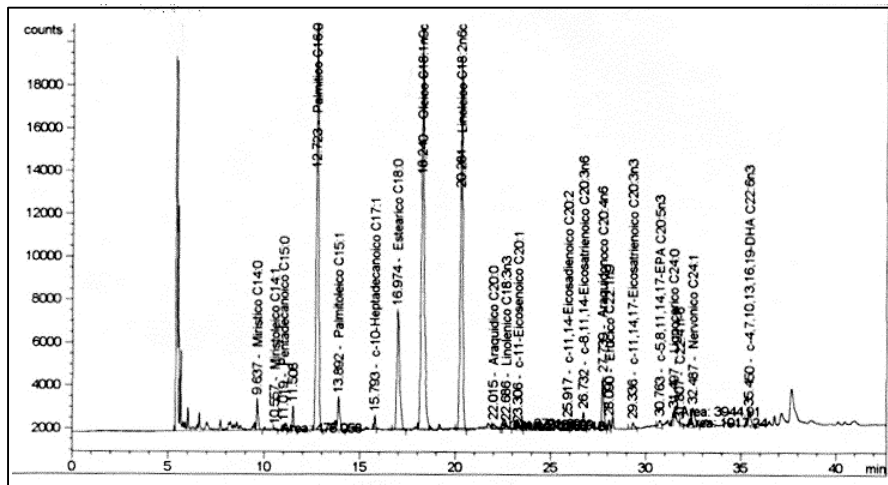
Se inyectaron 2 µl de muestra resuspendida en un cromatógrafo HP (Hewlett Packard), modelo 5890 A (Philadelphia, PA, USA), provisto del siguiente equipamiento y con las características analíticas detalladas en la Tabla 17:

- a) Inyector automático HP 7673 A
- b) Detector de ionización de llama
- c) Columna capilar sílice fundida, modelo SP™ 2330, SUPELCO, de 60 m de longitud, 0.32 mm de diámetro interno(i.d.), 0.20 mm de espesor de fase estacionaria y 0.20 µm de tamaño de partícula.
- d) Integrador HP 3393 A.

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS	CROMATOGRAFÍA DE GASES
<b>FLUJO GAS DETECTOR</b>	Hidrógeno 30 ml/min Aire (oxígeno) 400 ml/min Nitrógeno 4 ml/min
<b>FLUJO GAS PORTADOR</b>	Flujo entrada 60 ml/min Flujo columna 1 ml/min
<b>PROGRAMACIÓN DE TEMPERATURAS (duración total: 40 minutos)</b>	5 min hasta 160 °C 6 min hasta 195 °C 6 min hasta 220 °C 6 min hasta 230 °C 12 min hasta 230 °C 5 min hasta 160 °C

**Tabla 17:** Características analíticas del cromatógrafo empleado en la cuantificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, de las membranas pancreáticas.

La identificación cromatográfica de los ácidos grasos se determinó comparativamente, a partir de los tiempos de retención de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de la solución patrón empleada en cada uno (estándar externo). La Figura 16 representa un cromatograma de los ácidos grasos presentes en una muestra de membrana de microsomas de acino pancreático. Los resultados se expresaron como porcentajes normalizados.



**Figura 17:** Cromatograma correspondiente a los ácidos grasos presentes en una muestra de membrana, de microsomas pancreáticos. El perfil lipídico viene determinado por los tiempos de retención.

## 8.-TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

En general, todas las determinaciones se realizaron por duplicado, correspondiendo el valor final a la media  $\pm$  error estándar de la media ( $X \pm EEM$ ). Se realizó en primer lugar una estadística descriptiva básica para cada uno de los grupos. A continuación se aplicó un test de varianza para averiguar si existían diferencias significativas intergrupos (ANOVA de un factor), realizando comparaciones múltiples mediante pruebas *post hoc* (DMS y Bonferroni). El nivel de significación considerado ha sido del 95 %.



# RESULTADOS



## 1.-MODIFICACIONES PONDERALES POR EFECTO DE LA DIETA

En la Tabla 18 se adjuntan los resultados de los pesos corporales de los distintos grupos experimentales. Están reflejados los valores obtenidos al inicio del periodo experimental (día 0), a los 50 días (punto de sacrificio de un grupo aterogénico y cambio de dietas) y los correspondientes al final del mismo (80 días).

	DÍA 0	50 DÍAS	80 DÍAS
<b>CONTROL</b>	3375±132.1	3760±151.9	3849±260.7
<b>ATEROGÉNICO</b>	3521±35.9	3494±80.2 <sup>+</sup>	-
<b>OLIVA VIRGEN</b>	3521±35.9	3494±80.2 <sup>+</sup>	3636±72.3
<b>OLIVA</b>	3521±35.9	3494±80.2 <sup>+</sup>	3685±56.7
<b>GIRASOL</b>	3521±35.9	3494±80.2 <sup>+</sup>	3552±129.7
<b>PESCADO</b>	3521±35.9	3494±80.2 <sup>+</sup>	3906±58.4

**Tabla 18:** Pesos corporales al inicio del experimento (0 días), a los 50 días (sacrificio grupo A y cambio de dietas) y al final del periodo experimental (80 días) (expresado en gramos) de los diferentes grupos experimentales: (C) control (n=6), (A) aterogénico (n=4), (V) oliva virgen (n=6), (O) oliva (n=6), (G) girasol (n=6) y (P) pescado (n=6). Los valores expresan el valor de la media ± EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

No se observan diferencias significativas intergrupos para los pesos iniciales, aunque, puesto que partimos de dos lotes distintos de animales (grupos C y A), la media ponderal del grupo control es inferior a la del grupo aterogénico (3375±132.1 vs 3521±35.9). Transcurridos 50 días encontramos valores significativamente mayores en el peso de los animales del grupo C (3760±151.9) respecto al resto de animales, todos ellos alimentados con la dieta aterogénica (3494±80.2).

En lo que respecta a los datos obtenidos al finalizar el periodo experimental (80 días), previo al sacrificio de los animales, tanto el grupo C como los grupos alimentados con los

distintos aceites incrementan su peso, al compararlo con el valor de partida. No obstante, no se muestran cambios significativos entre ninguno de los grupos experimentales, encontrando los valores más elevados en el grupo P y los más bajos en el G.

La Tabla 19 refleja el incremento de peso a lo largo del tiempo, para cada grupo experimental.

	CONTROL	ATERO- GÉNICO	OLIVA VIRGEN	OLIVA	GIRASOL	PESCADO
<b>INCREMENTO- A (0-50 DÍAS)</b>	385.6±92.12 <sup>a</sup>	-27.7±35.89	-27.7±35.89	-27.7±35.89	-27.7±35.89	-27.7±35.89
<b>INCREMENTO- B (50-80 DÍAS)</b>	88.5±152.15	-	142.5±72.32	190.8±56.67 <sup>b</sup>	58.7±129.68	412.7±58.43 <sup>b</sup>
<b>INCREMENTO- C (0-80 DÍAS)</b>	474.1±196.68 <sup>g</sup>	-	-	-	-	-

**Tabla 19:** Incremento de peso (expresado en gramos) en los periodos comprendidos entre el día 0 hasta el 50 (incremento A), 50 y 80 (incremento B) y 0 y 80 (incremento C) de los diferentes grupos experimentales: (C) control (n=6), (A) aterogénico (n=4), (V) oliva virgen (n=6), (O) oliva (n=6), (G) girasol (n=6) y (P) pescado (n=6). Los valores expresan el valor de la media ± EEM. Indican diferencias significativas a lo largo del tiempo, dentro de cada grupo experimental; ( $\alpha$ ) entre los días 0 y 50; ( $\beta$ ) entre los días 50 y 80; ( $\gamma$ ) entre los días 0 y 80.  $p < 0.05$ .

La evolución ponderal en el tiempo para el grupo control muestra un incremento significativo (385.6±92.12) entre el inicio del periodo experimental y los 50 días. Sin embargo, no se encuentran diferencias significativas entre el día 50 y el final del periodo experimental (88.5±152.15). No obstante, se sigue produciendo un incremento ponderal, aunque leve. Este hecho parece indicar una estabilización del peso corporal de estos animales durante estos 30 últimos días de ingesta de la dieta estándar. Como es lógico, las diferencias encontradas entre el inicio y final del periodo experimental también se muestran estadísticamente significativas (474.1±196.68).



No encontramos diferencias significativas en el incremento ponderal a lo largo de los 50 días para el grupo aterogénico, aunque éste es negativo ( $-27.7 \pm 35.89$ ), pues como hemos mencionado, se produce un descenso en el mismo, tras la ingesta de la dieta aterogénica, en este grupo experimental.

Durante los últimos 30 días (periodo comprendido entre los días 30 y 80), los grupos que ingieren los distintos aceites muestran un aumento de peso, que sólo se hace significativo en los grupos oliva y pescado.

En la Tabla 20 se indican los pesos del páncreas y la relación pancreosomática (peso páncreas/peso corporal) de cada uno de los grupos experimentales.

	<b>PESO PÁNCREAS (g)</b>	<b>RELACIÓN PANCREOSOMÁTICA (Peso Páncreas / Peso Corporal)</b>
<b>CONTROL</b>	2.8± 0.46	7.7e-04± 1.42e-04
<b>ATEROGÉNICO</b>	3.0± 0.41	10.3e-04± 2.11e-04
<b>OLIVA VIRGEN</b>	3.5±0.34	9.7e-04±1.15e-04
<b>OLIVA</b>	3.5± 0.34	9.5e-04±0.82e-04
<b>GIRASOL</b>	2.7± 0.36	7.7e-04±1.14e-04
<b>PESCADO</b>	3.5±0.22	8.9e-04±0.56e-04

**Tabla 20:** Pesos de páncreas al sacrificio (expresado en gramos) y relación pancreosomática (peso páncreas/pesocorporal) de los diferentes grupos experimentales: (C) control (n=6), (A) aterogénico (n=4), (V) oliva virgen (n=6), (O) oliva (n=6), (G) girasol (n=6) y (P) pescado (n=6). Los valores expresan el valor de la media ± EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

No hemos encontrado diferencias significativas entre los distintos grupos experimentales, en lo que respecta al peso del páncreas de estos animales. Tampoco se observan cambios significativos intergrupos en la relación pancreosomática (peso páncreas/peso corporal).

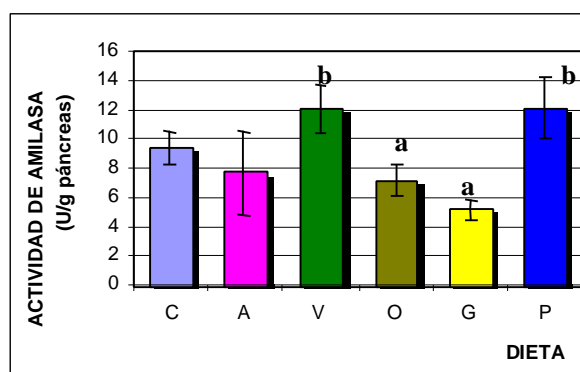
## 2.-ACTIVIDAD DE ENZIMAS PANCREÁTICAS

### 2.1.-ACTIVIDAD (U/g páncreas)

#### AMILASA

La actividad de amilasa no presenta diferencias significativas entre los grupos C y A, siendo más baja para este último (Tabla 21). Tampoco se observan cambios significativos al comparar ambos grupos con cualquiera de los grupos tratados con los distintos aceites.

Sí se muestran valores significativamente menores de los grupos O y G frente a los grupos V y P, acercándose estos dos últimos a los niveles del grupo C (Figura 18).

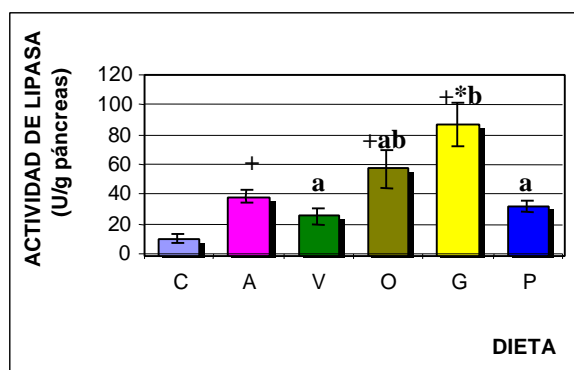


**Figura 18:** Actividad de amilasa (U/ g páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

#### LIPASA

Los datos mostrados en la Tabla 21 indican valores significativamente mayores de actividad de lipasa para el grupo A frente al C. El grupo G presenta los niveles más elevados de actividad, con cambios significativos frente a todos los grupos experimentales, excepto frente a

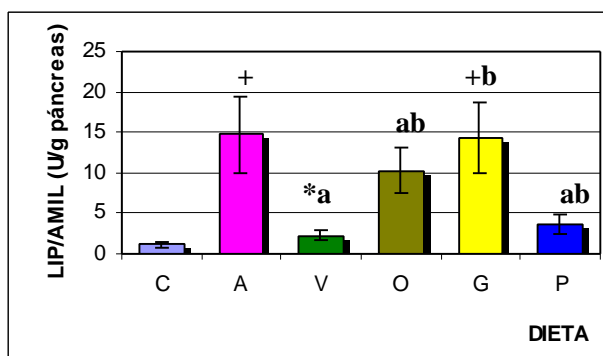
O. Este último muestra también incrementos significativos frente al grupo C. El grupo V presenta los valores más bajos de actividad, acercándose al grupo C (Figura 19).



**Figura 19:** Actividad de lipasa (U/ g páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

## RELACIÓN LIPASA/AMILASA

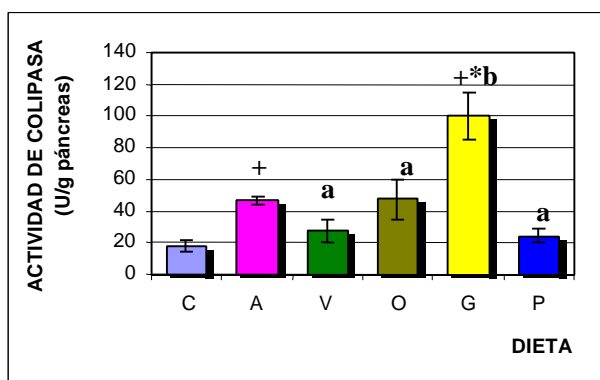
La relación lipasa/amilasa se muestra significativamente diferente entre los distintos grupos experimentales (Tabla 21). Los mayores niveles se encuentran en el grupo A, que presenta diferencias significativas frente a los grupos C y V. El grupo C es el que presenta los valores mínimos, con diferencias significativas también frente a G. Lo mismo ocurre con el grupo V, que se desmarca del grupo G, con valores significativamente menores (Figura 20).



**Figura 20:** Relación lipasa/amilasa (U/ g páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

## COLIPASA

El patrón de comportamiento observado para esta actividad enzimática es muy similar al encontrado en la actividad de lipasa. Se muestran pues, diferencias significativas entre los grupos C y A, con niveles mayores en este último grupo (Figura 21).



**Figura 21:** Actividad de colipasa (U/ g páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

En el grupo alimentado con aceite de girasol se observan los niveles más elevados de actividad, con cambios significativos frente al resto de los grupos.

Se manifiesta asimismo que los grupos V y P son los más próximos al grupo C, presentando los niveles más bajos de actividad (Tabla 21).

## TRIPSINA

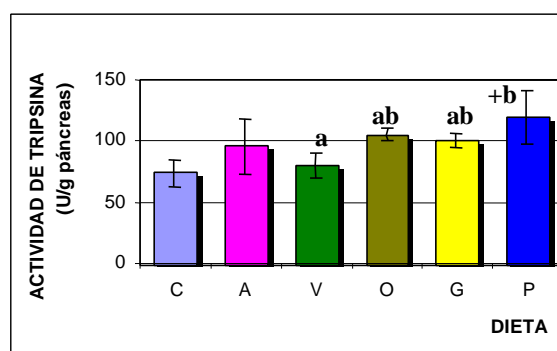
No observamos cambios significativos entre los grupos C y A, aunque se presentan valores más elevados en el grupo A (Tabla 21).

El grupo alimentado con aceite de pescado, manifiesta cambios significativos frente al grupo C, al mostrar los mayores niveles de actividad.

Ninguno de los grupos tratados con los distintos aceites provoca cambios significativos frente al grupo A. No obstante, cualquiera de ellos, a excepción del V, aumenta sus niveles

respecto a dicho grupo A. Así, en el grupo V se produce un descenso en la actividad, aproximándose a los niveles del grupo C (Figura 22).

Se observan cambios significativos entre los grupos alimentados con aceite de oliva virgen y con aceite de pescado.



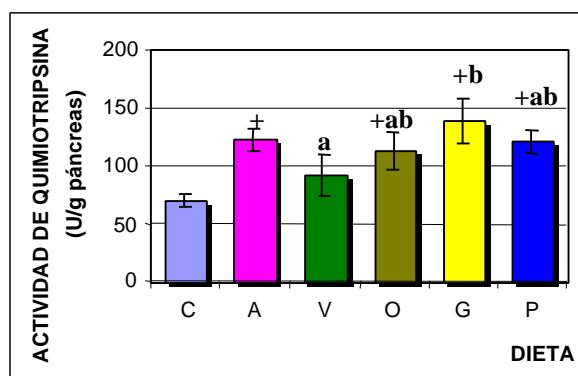
**Figura 22:** Actividad de tripsina (U/ g páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

## QUIMIOTRIPSINA

Como indica la Tabla 21, los grupos C y A muestran cambios significativos entre sí para la actividad de quimi tripsina, con niveles más elevados para A.

Los grupos tratados con los distintos aceites no presentan diferencias significativas frente al grupo A. Sí se observan incrementos significativos de actividad en los grupos O, G y P frente a C.

En el grupo G se encuentran los niveles más elevados, con diferencias significativas frente a V; éste se acerca al grupo C, presentando los niveles más bajos de actividad (Figura 23).

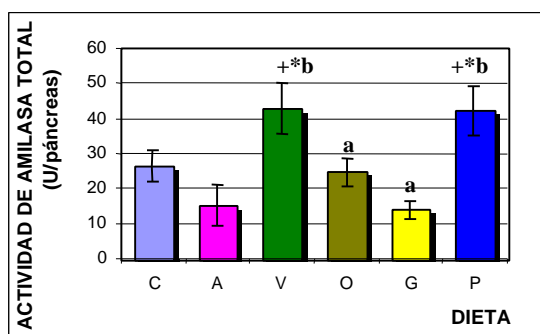


**Figura 23:** Actividad de quimi tripsina (U/ g páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

## 2.2.-ACTIVIDAD TOTAL (U/páncreas)

### AMILASA

El grupo A es el que presenta los niveles más bajos de actividad de amilasa total. No encontramos cambios significativos de éste frente al grupo C (Tabla 22).



**Figura 24:** Actividad de amilasa total (U/ páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

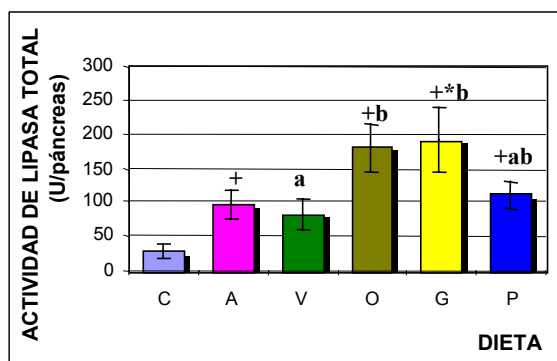
El grupo V muestra los niveles más elevados de actividad y, junto con el grupo P, presenta diferencias significativas frente a los grupos C y A.

Los grupos O y G siguen una tendencia similar entre sí, con niveles significativamente menores de actividad frente a V y a P. Además, los grupos O y G se acercan respectivamente a C y a A (Figura 24).

## LIPASA

El grupo C presenta los valores más bajos de actividad de lipasa total, mostrando diferencias significativas frente al grupo A (Tabla 22). Asimismo, los grupos tratados con los distintos aceites, excepto V, incrementan significativamente la actividad frente al grupo C.

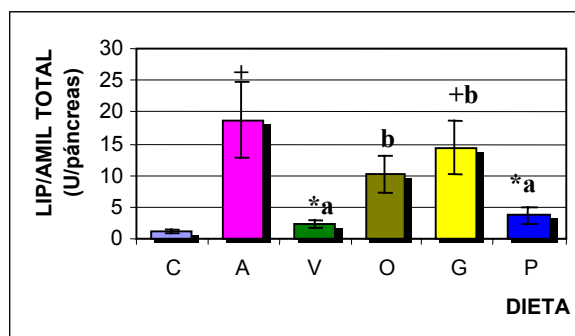
El grupo G presenta además, cambios significativos frente a A, con los mayores niveles de actividad observados (Figura 25). Los valores del grupo V son los que más se acercan a los del grupo A. El grupo V muestra niveles menores respecto a O, G y P, presentando diferencias significativas frente a O y G.



**Figura 25:** Actividad de lipasa total (U/ páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

## RELACIÓN LIPASA/AMILASA

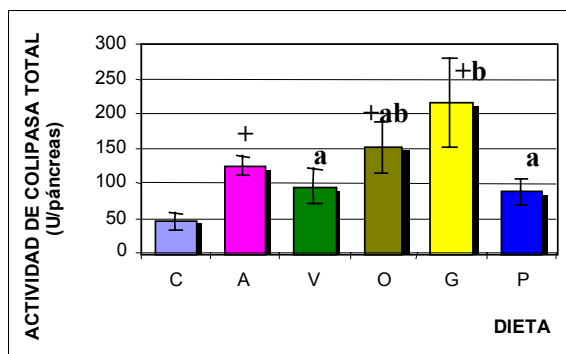
El patrón de comportamiento de los distintos grupos es similar al encontrado para actividad por gramo de páncreas (Tabla 22). Las únicas diferencias son observadas en el grupo P, que para la actividad total muestra cambios significativos frente a los grupos A y G, con valores menores respecto a éstos (Figura 26).



**Figura 26:** Relación lipasa/amilasa total (U/ páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

## COLIPASA

Los datos de actividad de colipasa total muestran cierta similitud con los de actividad de lipasa. Así, podemos observar niveles significativamente mayores en el grupo A frente a C.



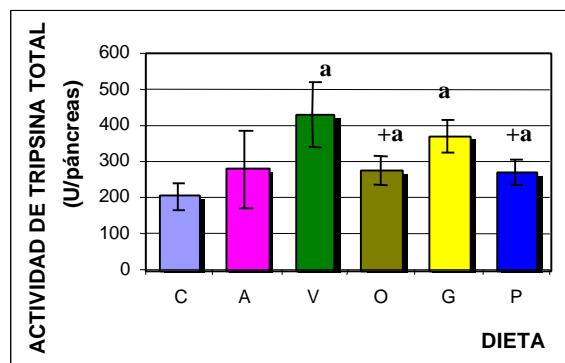
**Figura 27:** Actividad de colipasa total (U/ páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

Los grupos O y G también muestran incrementos significativos frente a C (Figura 27).

El grupo G muestra los niveles más elevados, también para esta actividad. Estos cambios son significativos frente a V y a P. El grupo P manifiesta los niveles más bajos, mostrándose más cercano al grupo C (Tabla 22).



## TRIPSINA



**Figura 28:** Actividad de tripsina total (U/ páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

No se observan diferencias significativas en los niveles de actividad de tripsina total entre los grupos C y A, a pesar de ser mayores en este último grupo (Tabla 22).

Por el contrario, los grupos O y P sí presentan niveles significativamente superiores frente a C (Figura 28).

Tampoco se muestran niveles significativamente diferentes en ninguno de los grupos tratados con los distintos aceites frente al grupo A. No obstante, en los grupos O y P dichos valores incrementan.

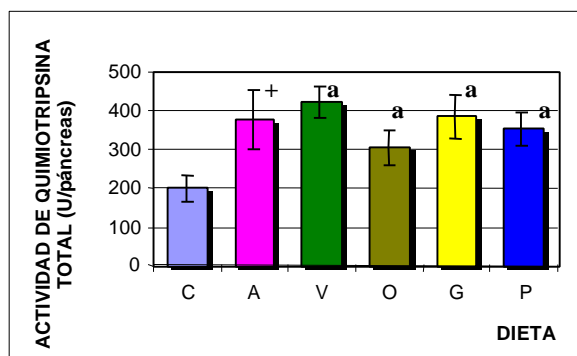
No encontramos cambios significativos entre los cuatro grupos que ingieren los aceites, mostrando el grupo P el mayor nivel de actividad y el G el más bajo.

## QUIMIOTRIPSINA

Se observa un alto grado de similitud entre los valores de actividad total de tripsina y quimi tripsina total; para esta última, encontramos niveles mayores en el grupo A, aunque en este caso sí se manifiestan cambios significativos frente al grupo C (Tabla 22).

Asimismo, se muestran incrementos de actividad con cualquiera de los aceites empleados frente al grupo C, siendo éste el que presenta los valores más bajos encontrados. Dichos cambios son significativos en O, G y P.

Se indica un descenso de la actividad en los grupos V y G respecto a A, sin mostrar diferencias significativas (Figura 29).



**Figura 29:** Actividad de quimiotripsina total (U/páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

Tal y como ocurre para la actividad de tripsina total, no se observan cambios significativos entre estos cuatro grupos citados. Los mayores valores encontrados corresponden al grupo P.

### 2.3.-ACTIVIDAD ESPECÍFICA (U/mg proteína)

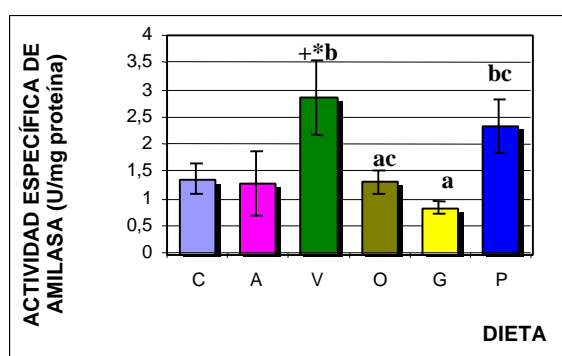
#### AMILASA

Los datos de actividad de amilasa específica, mostrados en la Tabla 23, indican ausencia de cambios significativos entre los grupos C y A, siendo ligeramente menores en este último grupo.

Cualquiera de los grupos tratados con los distintos aceites, con excepción del grupo G, incrementa su actividad respecto a C y a A. Además, en el grupo V estos cambios se manifiestan significativos frente a ambos.

Los grupos V y P muestran incrementos frente a C. En el caso del grupo V, dichas modificaciones son asimismo significativas (Figura 30).

Al comparar los cuatro grupos tratados con los distintos aceites, observamos que el grupo V presenta los valores más elevados de actividad, con cambios significativos frente O y G. El grupo G muestra los niveles más bajos, con modificaciones significativas también frente al grupo P.



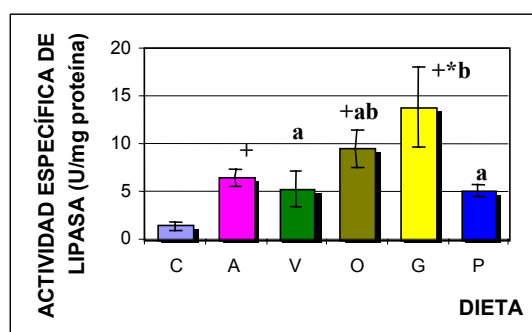
**Figura 30:** Actividad específica de amilasa (U/ mg proteína) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

## LIPASA

El grupo A presenta valores significativamente mayores de actividad específica de lipasa que el grupo C (Tabla 23).

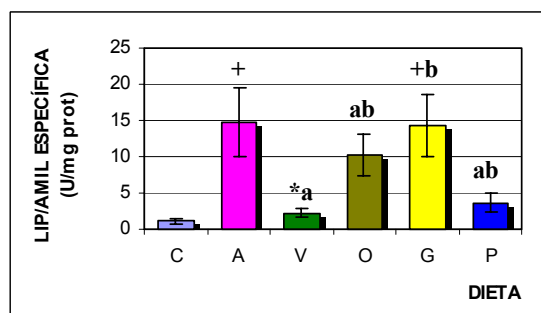
El grupo C es el que más bajos niveles presenta. El grupo G muestra los valores más elevados observados y, junto con O, manifiestan incrementos significativos respecto al grupo C. Además, el grupo G se desliga del A, mostrando valores significativamente mayores.

Cuando se comparan los efectos de los diferentes aceites, se pone de manifiesto que el grupo G muestra cambios significativos frente a los grupos V y P. Ambos se muestran menores que A (Figura 31).



**Figura 31:** Actividad específica de lipasa (U/ mg proteína) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

## RELACIÓN LIPASA/AMILASA

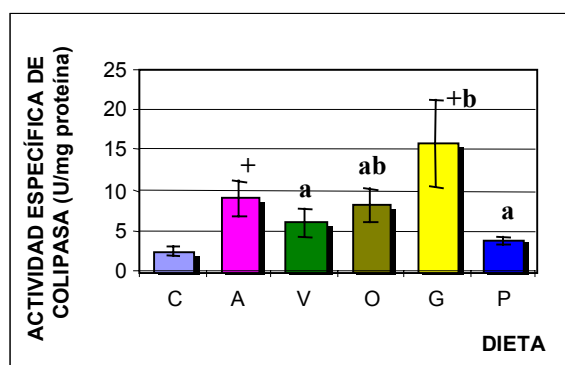


**Figura 32:** Relación lipasa/amilasa específica (U/ mg proteína) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

El patrón de comportamiento encontrado en todos los grupos experimentales es exactamente igual que el observado para actividad (U/g páncreas), con las mismas diferencias significativas.

## COLIPASA

Al igual que observamos para la actividad lipasa, los valores de actividad específica de colipasa muestran niveles significativamente superiores en el grupo A que en el grupo C (Tabla 23). Observamos cómo el grupo G presenta incrementos significativos frente a C (Figura 33).



**Figura 33:** Actividad específica de colipasa (U/ mg proteína) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C; V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

Ninguno de los grupos tratados con los aceites manifiesta diferencias significativas frente al grupo A. No obstante, cualquiera de ellos, excepto G, muestra descensos en dicha actividad. El grupo G es el que mayores niveles presenta, siendo significativamente diferente a los grupos V y P. El grupo P manifiesta los valores más cercanos al grupo C.

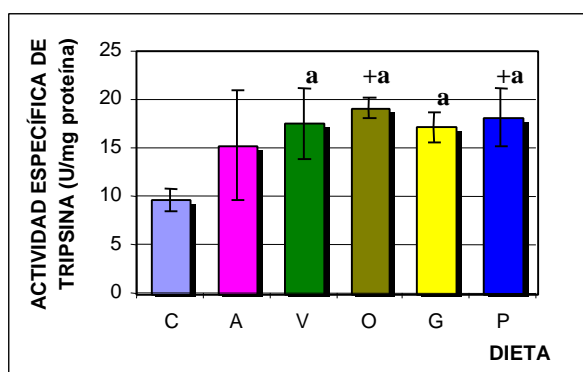
## TRIPSINA

No observamos cambios estadísticamente significativos entre C y A, presentando el grupo C los valores más bajos de actividad específica de tripsina (Tabla 23).

Con cualquiera de los aceites empleados, la actividad se ve incrementada frente a la observada en el grupo C. Se muestran diferencias significativas sólo con los grupos O y P. El

El grupo A se desmarca de cualquiera de los grupos tratados con los aceites, aunque sin diferencias significativas frente a ninguno de ellos.

Tampoco se encuentran diferencias significativas entre los cuatro grupos que ingieren los aceites (Figura 34).

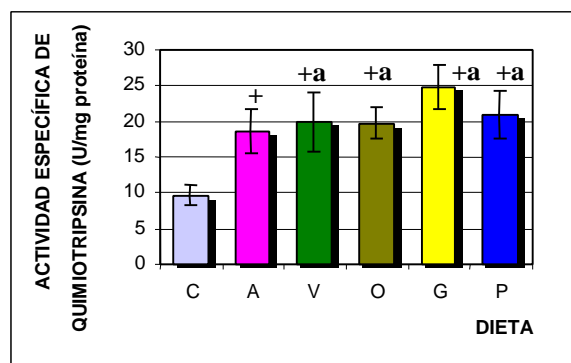


**Figura 34:** Actividad específica de tripsina (U/ mg proteína) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

## QUIMIOTRIPSINA

Los valores mínimos de actividad específica de quimiotripsina se observan en el grupo C, con diferencias significativas frente al resto de grupos experimentales (Tabla 23).

El empleo de distintos aceites ocasiona incrementos en la actividad frente al grupo A. No obstante, no se presentan cambios significativos con ninguno de ellos (Figura 35).



**Figura 35:** Actividad específica de quimiotripsina (U/ mg proteína) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $P < 0.05$ .

Tampoco hemos encontrado diferencias significativas entre los cuatro grupos tratados con estos aceites. Los niveles más elevados de actividad se corresponden con el grupo G y los mínimos con el grupo O, acercándose éste al grupo A.

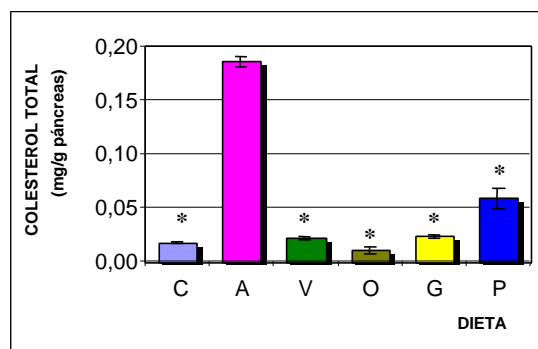
Con cualquiera de las tres formas diferentes de expresión de actividad enzimática empleadas (U/g páncreas, U/páncreas, U/mg proteína) observamos el mismo patrón de comportamiento, al comparar los grupos C y A. Así, encontramos cambios significativos entre ambos grupos experimentales para las actividades: lipasa, relación lipasa/amilasa, colipasa y quimiotripsina, sin que se muestren diferencias significativas ni para amilasa ni para tripsina.

#### 2.4.-PROTEÍNA TOTAL (mg/g páncreas)

Los datos mostrados en la Tabla 23 indican ausencia de diferencias significativas entre los grupos C y A, aunque se presentan ligeramente más bajos en el grupo A. El grupo V es el que muestra el menor contenido proteico, con descensos significativos frente al grupo C. No se muestran cambios significativos entre los grupos que ingieren los distintos aceites.

#### 3.-COLESTEROL TOTAL (mg/g páncreas)

Los resultados del contenido en colesterol total presente en tejido pancreático, expresados como mg colesterol/g páncreas vienen representados gráficamente en la Figura 36. Se observan los valores más elevados en el grupo A, que muestra diferencias significativas frente al resto de grupos experimentales. El grupo que presenta menor contenido en colesterol total es el grupo O. No se muestran cambios significativos entre ninguno de los grupos alimentados con los distintos aceites, ni tampoco de estos grupos frente al grupo C.



**Figura 36:** Contenido en colesterol total en tejido pancreático (mg/g páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control (A), aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas para los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .





	<i>AMILASA</i>	<i>LIPASA</i>	<i>LIP/AMIL</i>	<i>COLIPASA</i>	<i>TRIPSINA</i>	<i>QUIMIOTRIPSINA</i>
<b>CONTROL</b>	9.45±1.038	10.14±2.859	1.11±0.286	17.82±3.692	73.71±11.463	69.97±5.681
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>ATEROGÉNICA</b>	7.69±2.897	38.54±4.577 <sup>+</sup>	14.77±8.718 <sup>+</sup>	46.61±0.305 <sup>+</sup>	95.74±22.438	122.22±9.774 <sup>+</sup>
<i>n</i>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>OLIVA VIRGEN</b>	12.09±1.665 <sup>b</sup>	25.18±5.781 <sup>a</sup>	2.26±0.581 <sup>*a</sup>	27.58±7.318 <sup>a</sup>	79.45±10.272 <sup>a</sup>	91.76±18.123 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>OLIVA</b>	7.15±1.057 <sup>a</sup>	57.15±12.837 <sup>+ab</sup>	10.24±2.832 <sup>ab</sup>	47.41±12.991 <sup>a</sup>	105.58±5.546 <sup>ab</sup>	113.12±16.031 <sup>+ab</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>GIRASOL</b>	5.19±0.641 <sup>a</sup>	87.17±25.941 <sup>+*b</sup>	14.37±4.295 <sup>+b</sup>	100.17±34.543 <sup>+*b</sup>	100.68±5.920 <sup>ab</sup>	139.19±19.271 <sup>+b</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>PESCADO</b>	12.11±2.065 <sup>b</sup>	31.40±3.783 <sup>a</sup>	3.66±1.230 <sup>ab</sup>	24.15±4.138 <sup>a</sup>	119.57±21.633 <sup>+b</sup>	120.52±9.636 <sup>+ab</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 21:** Actividad (U/g páncreas) de enzimas determinadas en tejido pancreático, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A) (n=4), oliva virgen (V), oliva (O), girasol (G) y pescado (P). Los valores expresan la media ± EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	<i>AMILASA</i>	<i>LIPASA</i>	<i>LIP/AMIL</i>	<i>COLIPASA</i>	<i>TRIPSINA</i>	<i>QUIMIOTRIPSINA</i>
<b>CONTROL</b>	26.39±4.406	27.45±8.528	1.11±0.286	45.74±11.512	202.57±39.453	200.15±32.358
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>ATEROGÉNICO</b>	15.22±6.023	95.34±20.443 <sup>+</sup>	18.72±10.990 <sup>+</sup>	124.19±15.183 <sup>+</sup>	277.67±108.804	376.75±78.388 <sup>+</sup>
<i>n</i>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>OLIVA VIRGEN</b>	42.82±7.228 <sup>+*b</sup>	83.47±21.648 <sup>a</sup>	2.26±0.581 <sup>*a</sup>	95.34±24.110 <sup>a</sup>	275.78±39.701 <sup>a</sup>	303.75±46.499 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>OLIVA</b>	24.69±3.848 <sup>a</sup>	181.07±34.882 <sup>+b</sup>	10.24±2.832 <sup>b</sup>	150.97±37.125 <sup>+ab</sup>	369.98±42.705 <sup>+a</sup>	384.97±56.084 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>GIRASOL</b>	13.90±2.590 <sup>a</sup>	191.66±47.243 <sup>+*b</sup>	14.37±4.295 <sup>+b</sup>	214.85±63.688 <sup>+b</sup>	270.05±33.670 <sup>a</sup>	353.27±44.219 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>PESCADO</b>	42.10±7.080 <sup>+*b</sup>	111.21±19.916 <sup>+ab</sup>	3.66±1.230 <sup>*a</sup>	88.10±17.875 <sup>a</sup>	429.55±91.856 <sup>+a</sup>	422.73±42.616 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 22:** Actividad total (U/páncreas) de enzimas determinadas en tejido pancreático de los distintos grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), oliva virgen (V), oliva (O), girasol (G) y pescado (P). Los valores expresan la media ± EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	<i>AMILASA</i>	<i>LIPASA</i>	<i>LIP/AMIL</i>	<i>COLIPASA</i>	<i>TRIPSINA</i>	<i>QUIMIOTRIPSINA</i>	<i>PROTEÍNA TOTAL</i>
<b>CONTROL</b>	1.36±0.271	1.40±0.460	1.11±0.286	2.36±0.512	9.65±1.125	9.69±1.363	7.75±0.855
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>ATEROGÉNICO</b>	1.28±0.587	6.46±0.948 <sup>+</sup>	14.77±8.718 <sup>+</sup>	8.93±2.138 <sup>+</sup>	15.26±5.614 <sup>+</sup>	18.54±3.125 <sup>+</sup>	7.29±1.229
<i>n</i>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>OLIVA VIRGEN</b>	2.85±0.687 <sup>+*b</sup>	5.26±1.804 <sup>a</sup>	2.26±0.581 <sup>*a</sup>	5.97±1.758 <sup>a</sup>	17.45±3.675 <sup>a</sup>	19.90±4.172 <sup>+a</sup>	5.12±0.757 <sup>+a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>OLIVA</b>	1.30±0.211 <sup>ac</sup>	9.54±1.959 <sup>+ab</sup>	10.24±2.832 <sup>ab</sup>	8.03±2.027 <sup>ab</sup>	19.12±1.130 <sup>+a</sup>	19.75±2.117 <sup>+a</sup>	5.69±0.607 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>GIRASOL</b>	0.83±0.109 <sup>a</sup>	13.82±4.184 <sup>+*b</sup>	14.37±4.295 <sup>+b</sup>	15.82±5.453 <sup>+b</sup>	17.17±1.504 <sup>a</sup>	24.78±3.130 <sup>+a</sup>	6.11±0.221 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>PESCADO</b>	2.33±0.495 <sup>bc</sup>	5.07±0.647 <sup>a</sup>	3.66±1.230 <sup>ab</sup>	3.77±0.505 <sup>a</sup>	18.09±2.972 <sup>+a</sup>	20.83±3.364 <sup>+a</sup>	6.14±0.522 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 23:** Actividad específica (U/ mg proteína) de enzimas determinadas en tejido pancreático, de conejos alimentados con las diferentes dietas. Asimismo, se adjuntan los resultados de concentración de proteína total (mg/g páncreas) a los cuales se hace referencia para el cálculo de dicha actividad. Grupos: control (C), aterogénico (A), oliva virgen (V), oliva (O), girasol (G) y pescado (P). Los valores expresan la media ± EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

#### **4.-PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN MEMBRANAS PLASMÁTICAS Y MITOCONDRIALES PANCREÁTICAS**

##### **1.-Mirístico (C14:0)**

No se observan cambios significativos en el porcentaje de ácido mirístico entre los grupos C y A, presentándose algo más bajos en este último grupo (Tabla 24). Ambos grupos presentan valores significativamente superiores a los grupos V, O y G. El grupo P muestra niveles significativamente más elevados que el resto de grupos que ingieren los diferentes aceites (Figura 37).

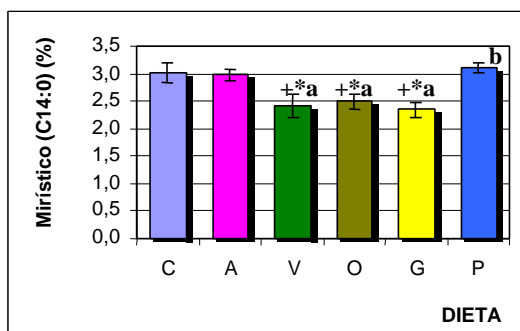
##### **2.- Palmítico (C16:0)**

Se observan valores significativamente más elevados en el porcentaje de este ácido graso para el grupo C frente a los demás grupos experimentales (Tabla 24).

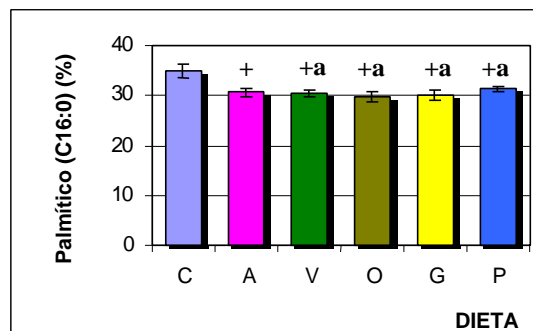
No se ponen de manifiesto cambios significativos entre el grupo A y el resto de grupos, ni entre los cuatro grupos tratados con los distintos aceites. El porcentaje más bajo, no obstante, se asocia al grupo O (Figura 38).

##### **3.- Esteárico (C18:0)**

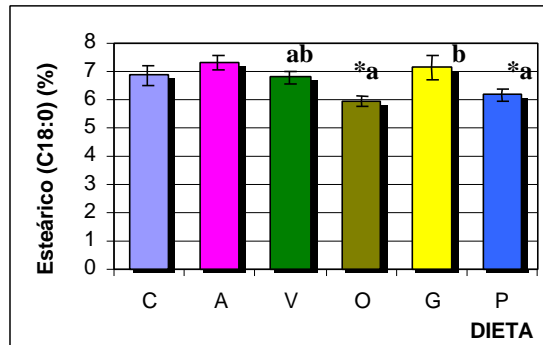
El mayor porcentaje de este ácido graso se asocia al grupo A, pero no muestra diferencias significativas frente al grupo C (Figura 39). Sí presenta valores significativamente distintos respecto a los grupos P y O. Este último manifiesta los valores más bajos, con cambios significativos también frente al grupo G (Tabla 24).



**Figura 37:** Porcentaje de ácido mirístico (C14:0) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 38:** Porcentaje de ácido palmítico (C16:0) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 39:** Porcentaje de ácido esteárico (C18:0) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

#### **4.- Miristoleico (C14:1 n-9)**

El grupo C presenta el porcentaje más elevado de ácido palmitoleico, que muestra diferencias significativas frente a los grupos A, V y O (Tabla 25).

La ingesta de cualquiera de los aceites no modifica significativamente los valores de este ácido graso respecto al grupo A. De éstos, el grupo P es el que manifiesta los niveles más elevados, y por tanto, más próximos al grupo C; dicho grupo muestra diferencias significativas frente al grupo O (este último grupo es el que presenta los niveles más bajos de ácido miristoleico) (Figura 40).

#### **5.- Palmitoleico (C16:1 n-9)**

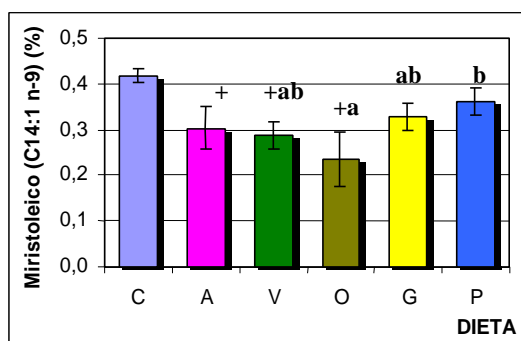
El porcentaje más elevado para este ácido graso se observa en el grupo C. Dicho valor es significativamente diferente al encontrado en el grupo A (Tabla 25).

La ingesta de los distintos aceites incrementa este porcentaje frente al grupo A, pero sin mostrar diferencias significativas entre ninguno de ellos.

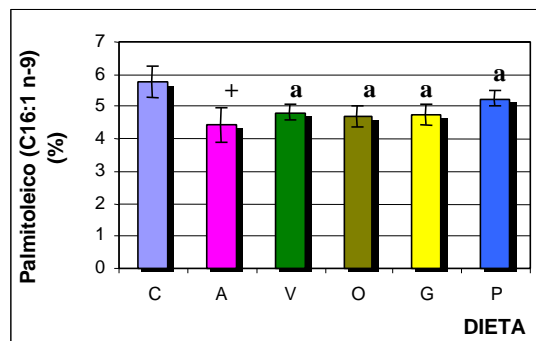
Tampoco observamos cambios significativos al comparar los cuatro grupos tratados con los aceites entre sí. Los valores más bajos corresponden al grupo O y los más elevados al grupo P, aproximándose así al grupo C (Figura 41).

#### **6.- Oleico (C18:1 n-9)**

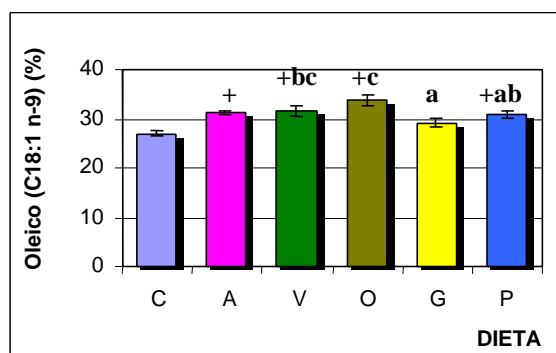
El grupo C es el que presenta el porcentaje más bajo de ácido oleico, con diferencias significativas frente a todos los grupos experimentales, excepto a G (Tabla 25). Este último grupo es el que muestra los valores más bajos, mostrando significación estadística frente a V y O. Los niveles más elevados corresponden al grupo O, que muestra cambios significativos además frente a P (Figura 42).



**Figura 40:** Porcentaje de ácido miristoleico (C14:1 n-9) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 41:** Porcentaje de ácido palmitoleico (C16:1 n-9) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 42:** Porcentaje de ácido oleico (C18:1 n-9) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

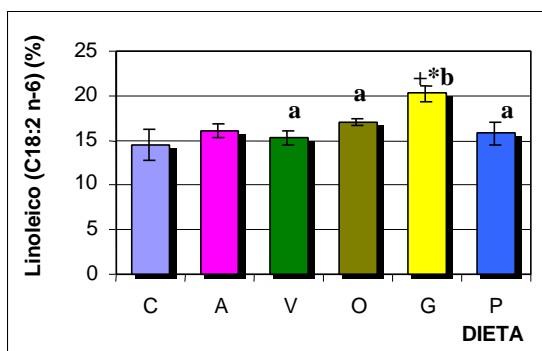
### 7.- Linoleico (C18:2 n6)

El porcentaje de ácido linoleico se presenta más bajo en el grupo C, pero sólo muestra diferencias significativas frente al grupo G. A este grupo corresponde el valor más elevado, que muestra diferencias significativas frente a todos los grupos experimentales (Figura 43). El resto de grupos no manifiestan diferencias significativas entre sí. El grupo V es el que más se aproxima al grupo C, con valores menores (Tabla 26).

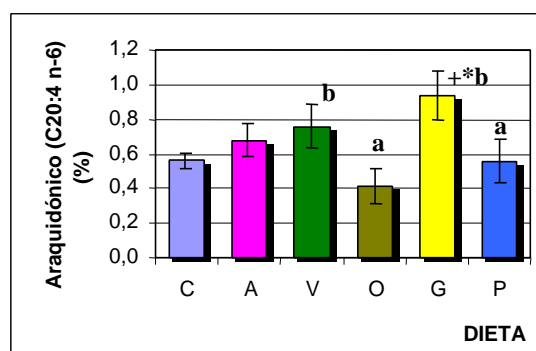
### 8.- Araquidónico (C20:4 n-6)

No observamos cambios significativos en el porcentaje de ácido araquidónico entre los grupos C y A, presentándose mayores en este último grupo (Tabla 26).

Encontramos los valores más elevados asociados al grupo G, que se muestra significativamente distinto a todos los grupos experimentales, excepto a V. Los niveles más bajos corresponden al grupo O, con diferencias significativas frente a V y G (Figura 44).



**Figura 43:** Porcentaje de ácido linoleico (C18:2 n-6) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 44:** Porcentaje de ácido araquidónico (C20:4 n-6) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



### **9.-PUFA (n-6)**

El porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados totales de la serie n-6 (PUFA (n-6)) muestra los valores más elevados en el grupo G, con diferencias significativas frente al resto de grupos experimentales (Tabla 27).

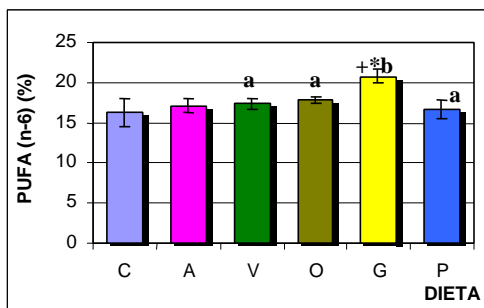
No se observan cambios significativos entre ningún otro grupo, encontrando los valores más bajos en el grupo C (Figura 45).

### **10.-PUFA >18 C (n-6)**

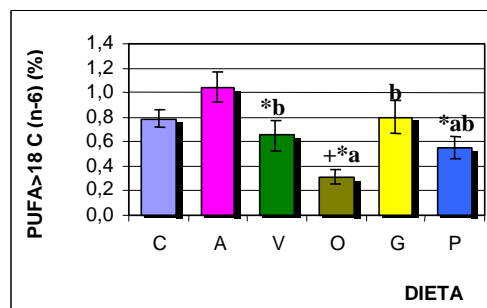
El porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados totales de la serie n-6 mayores de 18 átomos de C ( PUFA >18 C (n-6)), no muestra diferencias significativas entre los grupos C y A, siendo mayores en este último grupo (Tabla 27).

Cualquiera de los grupos alimentados con los aceites muestra descensos en el porcentaje de estos ácidos grasos cuando se comparan con el grupo A, excepto el grupo G, para el que se presentan los valores más elevados. En el caso del grupo O, estos descensos son significativos también frente a C.

El estudio comparativo de los cuatro grupos tratados con los distintos aceites manifiesta niveles más elevados en el grupo G, significativamente distintos frente a O (Figura 46).



**Figura 45:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 (PUFA n-6) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 46:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados mayores de 18 átomos de carbono de la serie n-6 (PUFA > 18C n-6) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

### 11.-Linolénico (C18:3 n-3)

Los grupos C y A muestran diferencias significativas entre sí, respecto al porcentaje en ácido linolénico. Este es mayor para el grupo C, que además manifiesta valores significativamente superiores a los grupos V y G (Tabla 28).

El grupo A presenta el porcentaje menor de ácido linolénico frente al resto de grupos experimentales, mostrando diferencias significativas sólo frente al grupo P.

No se observan cambios significativos entre los grupos tratados con los distintos aceites. De éstos, los valores más altos corresponden al grupo P y los menores al grupo V (Figura 47).

### **12.-EPA (Ácido Eicosapentaenoico) (C20:5 n-3)**

No se muestran cambios significativos en el porcentaje de ácido eicosapentaenoico (EPA) entre los grupos C y A, siendo prácticamente semejantes (Figura 48).

El grupo P muestra el valor más elevado en el porcentaje de ácido eicosapentaenoico (EPA), mostrando diferencias frente al resto de grupos experimentales. Los valores más bajos son observados en el grupo O (Tabla 28).

### **13.- DHA (Ácido Docosahexaenoico) (C22:6 n-3)**

No se observan cambios significativos en el porcentaje de ácido docosahexaenoico (DHA) entre los grupos C y A, mostrándose menores en este último grupo (Tabla 28).

El mayor porcentaje de ácido docosahexaenoico (DHA) se presenta en el grupo P, que muestra diferencias significativas frente al resto de grupos experimentales, excepto V. Los valores más bajos corresponden al grupo G (Figura 49).

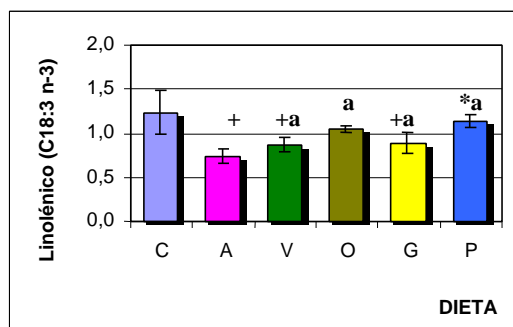
### **14.- PUFA (n-3)**

Los valores más bajos en el porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados totales de la serie n-3 (PUFA (n-3)) son asociados al grupo A, mostrándose significativamente distintos frente a C y a P. Este último grupo es el que presenta un mayor porcentaje de PUFA (n-3) (Figura 50). Dichos valores son estadísticamente significativos frente al resto de grupos experimentales (Tabla 29).

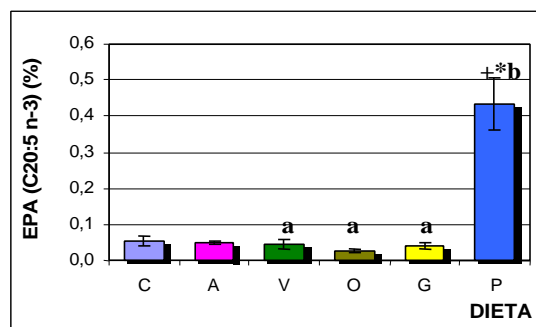
### **15.- PUFA>18C (n-3)**

No encontramos cambios en el porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados totales de la serie n-3 mayores de 18 átomos de C (PUFA>18C (n-3)) entre los grupos C y A, siendo algo menores en este último grupo (Tabla 29).

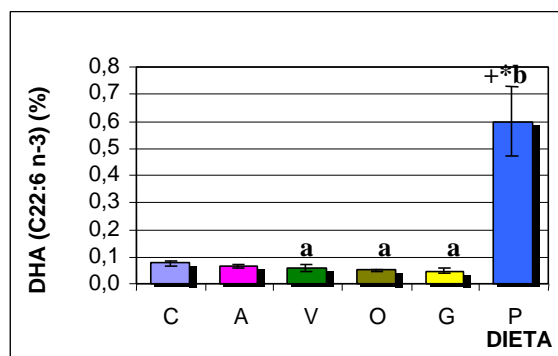
Los valores más elevados se presentan en el grupo P, que muestra diferencias significativas frente al resto de grupos. Los datos más bajos corresponden al grupo O (Figura 51).



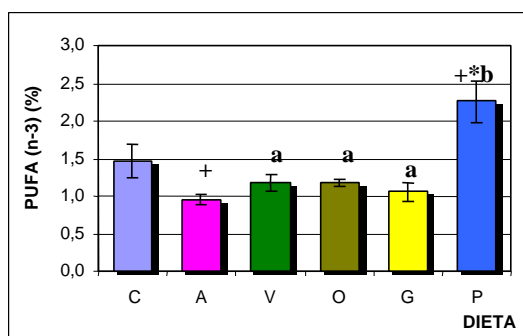
**Figura 47:** Porcentaje de ácido linolénico (C18:3 n-3) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



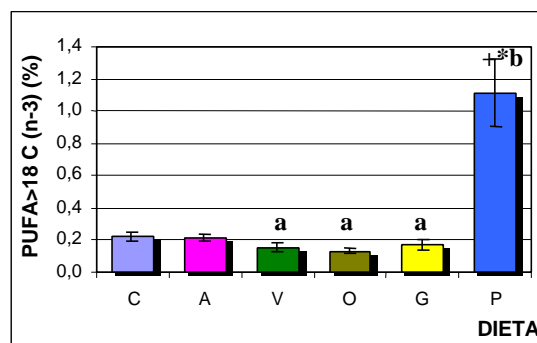
**Figura 48:** Porcentaje de ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5 n-3) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 49:** Porcentaje de ácido docosahexaenoico (DHA) (C22:6 n-3) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 50:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (PUFA n-3) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 51:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados mayores de 18 átomos de carbono de la serie n-3 (PUFA >18C n-3) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

## 16.-SFA (Ácidos grasos saturados totales)

Encontramos un porcentaje de SFA significativamente superior en el grupo C frente al resto de grupos experimentales.

El grupo A muestra valores significativamente distintos al grupo O. Este último es el que menor contenido en ácidos grasos saturados totales presenta (Tabla 30).

No observamos cambios significativos en el porcentaje de estos ácidos grasos entre los grupos tratados con los distintos aceites (Figura 52).

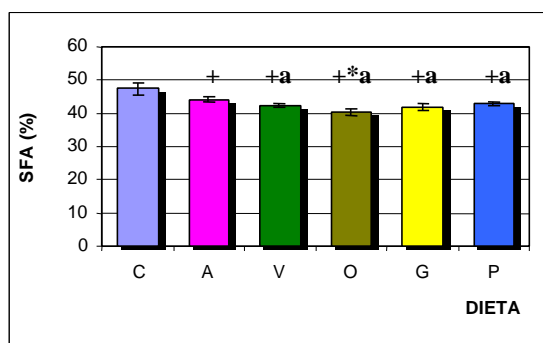
### 17.- MUFA (Ácidos grasos monoinsaturados totales)

Como se indica en la Tabla 30, el grupo C muestra el porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados totales más bajo, siendo estadísticamente significativo frente al resto de grupos estudiados, excepto a G.

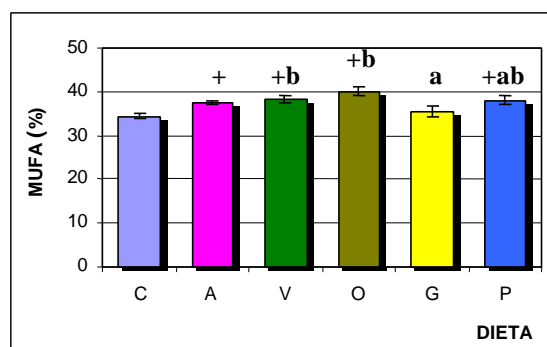
No encontramos cambios significativos entre el grupo A y los distintos grupos tratados con los aceites.

Observamos que el grupo G presenta los valores más bajos de MUFA, significativamente distintos frente a V y a O.

El grupo O es el que mayor contenido en estos ácidos grasos muestra (Figura 53).



**Figura 52:** Porcentaje de ácidos grasos saturados totales (SFA) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

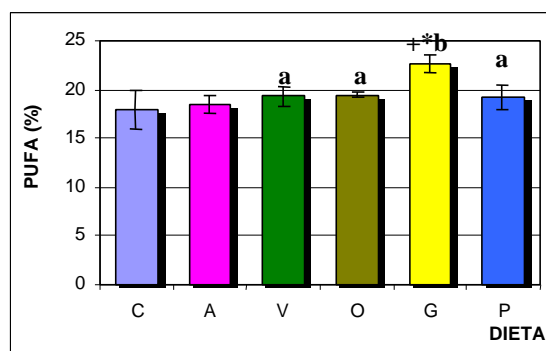


**Figura 53:** Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados totales (MUFA) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

## 18.- PUFA (Ácidos grasos poliinsaturados totales)

No hemos observado cambios significativos en el porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados totales entre los grupos A y C, aunque para éste último grupo se han encontrado los valores más bajos (Tabla 30).

El grupo G es el que muestra los valores más elevados, siendo significativamente diferentes al resto de grupos experimentales (Figura 54).



**Figura 54:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados totales (PUFA) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

## 19.- SFA/MUFA

El grupo C presenta un índice SFA/MUFA significativamente superior al resto de grupos experimentales (Tabla 31).

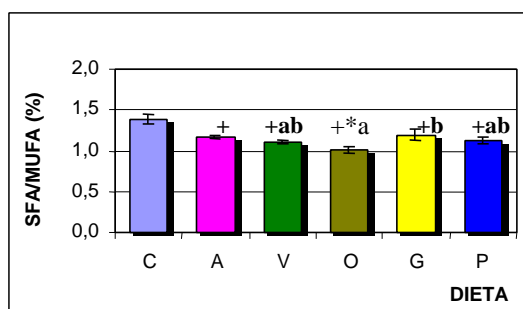
El grupo A también muestra valores significativamente mayores al grupo O. Este grupo manifiesta el menor índice SFA/MUFA, con diferencias significativas además frente a G (Figura 55).

## 20.- SFA/PUFA

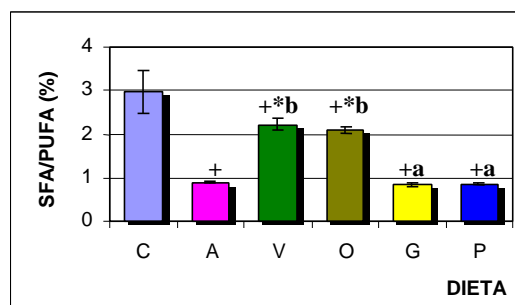
También para este índice encontramos que el grupo C es el que presenta los valores más altos, diferenciándose significativamente del resto de grupos experimentales (Tabla 31).

El grupo A se desmarca de los grupos V y O, con diferencias significativas frente a ambos.

Los valores más bajos se encuentran en el grupo G que, junto con P, muestran cambios significativos frente a V y O. Además, P y G se aproximan al grupo A (Figura 56).



**Figura 55:** Índice SFA/MUFA de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 56:** Índice SFA/PUFA de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

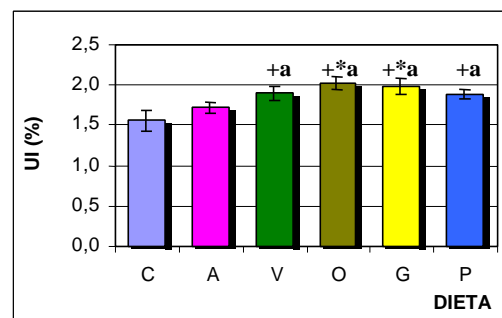


## 21.- UI (Índice de insaturación)

No se observan diferencias significativas en el índice de insaturación entre los grupos A y C. No obstante, éste muestra valores inferiores (Tabla 31).

Cualquiera de los grupos tratados con los distintos aceites incrementan este índice de manera significativa respecto al grupo C. Los grupos O y G además, lo hacen frente al grupo A.

No hemos encontrado cambios significativos entre los cuatro grupos que ingieren los aceites. Los niveles más elevados se asocian al grupo O (Figura 57).



**Figura 57:** Índice de insaturación (UI) de membranas plasmáticas y mitocondriales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

	Mirístico (C14:0)	Palmítico (C16:0)	Esteárico (C18:0)
<b>CONTROL</b>	3.02±0.172	34.85±1.410	6.87±0.342
<i>n</i>	6	6	6
<b>ATEROGÉNICO</b>	2.98±0.105	30.71±0.906 <sup>+</sup>	7.32±0.244
<i>n</i>	4	4	4
<b>OLIVA VIRGEN</b>	2.42±0.207 <sup>+*a</sup>	30.35±0.617 <sup>+a</sup>	6.79±0.238 <sup>ab</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>OLIVA</b>	2.49±0.136 <sup>+*a</sup>	29.69±1.067 <sup>+a</sup>	5.94±0.169 <sup>*a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>GIRASOL</b>	2.35±0.136 <sup>+*a</sup>	30.09±1.018 <sup>+a</sup>	7.13±0.438 <sup>b</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>PESCADO</b>	3.11±0.095 <sup>b</sup>	31.34±0.551 <sup>+a</sup>	6.17±0.201 <sup>*a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 24:** Porcentaje de ácidos grasos saturados (mirístico: C14:0, palmítico: C16:0 y esteárico: C18:0) de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	Miristoleico (C14:1 n9)	Palmitoleico (C16:1 n9)	Oleico (C18:1 n9)
<b>CONTROL</b>	0.42± 0.016	5.79± 0.491	26.99± 0.597
<i>n</i>	6	6	6
<b>ATEROGÉNICO</b>	0.30± 0.046 <sup>+</sup>	4.43± 0.529 <sup>+</sup>	31.32± 0.479 <sup>+</sup>
<i>n</i>	4	4	4
<b>OLIVA VIRGEN</b>	0.29± 0.030 <sup>+ab</sup>	4.82± 0.242 <sup>a</sup>	31.65± 0.958 <sup>+bc</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>OLIVA</b>	0.23± 0.059 <sup>+a</sup>	4.71± 0.314 <sup>a</sup>	33.77± 0.986 <sup>+c</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>GIRASOL</b>	0.33± 0.029 <sup>ab</sup>	4.76± 0.298 <sup>a</sup>	29.20± 0.981 <sup>a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>PESCADO</b>	0.36± 0.030 <sup>b</sup>	5.25± 0.244 <sup>a</sup>	30.91± 0.821 <sup>+ab</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 25:** Porcentajes de ácidos grasos monoinsaturados (palmitoleico: C16:1 n-9 y oleico: C18:1 n-9) de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

	Linoleico (C18:2 n-6)	Araquidónico (C20:4 n-6)
<b>CONTROL</b>	14.45±1.746	0.56±0.047
<i>n</i>	6	6
<b>ATEROGÉNICO</b>	16.15±0.800	0.70±0.098
<i>n</i>	4	4
<b>OLIVA VIRGEN</b>	15.24±0.782 <b>a</b>	0.76±0.127 <b>b</b>
<i>n</i>	6	6
<b>OLIVA</b>	17.13±0.378 <b>a</b>	0.41±0.101 <b>a</b>
<i>n</i>	6	6
<b>GIRASOL</b>	20.27±0.802 <b>+*b</b>	0.94±0.143 <b>+*b</b>
<i>n</i>	6	6
<b>PESCADO</b>	15.80±1.237 <b>a</b>	0.56±0.127 <b>a</b>
<i>n</i>	6	6
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 26:** Porcentajes de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n6 (linoleico: C18:2 n-6 y araquidónico: C20:4 n-6) de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	PUFA (n-6)	PUFA>18C (n-6)
<b>CONTROL</b>	16.24±1.774	0.79±0.068
<i>n</i>	6	6
<b>ATEROGÉNICO</b>	17.12±0.857	1.05±0.123
<i>n</i>	4	4
<b>OLIVA VIRGEN</b>	17.44±0.679 <sup>a</sup>	0.65±0.121 <sup>*b</sup>
<i>n</i>	6	6
<b>OLIVA</b>	17.79±0.347 <sup>a</sup>	0.31±0.055 <sup>+*a</sup>
<i>n</i>	6	6
<b>GIRASOL</b>	20.82±0.815 <sup>+*b</sup>	0.80±0.139 <sup>b</sup>
<i>n</i>	6	6
<b>PESCADO</b>	16.60±1.187 <sup>a</sup>	0.55±0.090 <sup>*ab</sup>
<i>n</i>	6	6
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 27:** Porcentajes de ácidos grasos PUFA de la serie n-6 y PUFA>18 C de la serie n-6, de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	Linolénico (C18:3 n3)	EPA (C20:5 n3)	DHA (C22:6 n3)
<b>CONTROL</b>	1.23±0.247	0.05±0.012	0.08±0.011
<i>n</i>	6	6	6
<b>ATEROGÉNICO</b>	0.74±0.083 <sup>+</sup>	0.05±0.006	0.07±0.006
<i>n</i>	4	4	4
<b>OLIVA VIRGEN</b>	0.87±0.078 <sup>+a</sup>	0.04±0.013 <sup>a</sup>	0.06±0.014 <sup>a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>OLIVA</b>	1.04±0.035 <sup>a</sup>	0.03±0.004 <sup>a</sup>	0.05±0.004 <sup>a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>GIRASOL</b>	0.89±0.116 <sup>+a</sup>	0.04±0.009 <sup>a</sup>	0.05±0.010 <sup>a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>PESCADO</b>	1.14±0.075 <sup>*a</sup>	0.43±0.072 <sup>+*b</sup>	0.60±0.128 <sup>+*b</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 28:** Porcentajes de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n3 (linolénico: C18:3 n-3, eicosapentaenoico, EPA: C20:5 n-3 y docosahexaenoico, DHA: C22:6 n-3) de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media±SEM. Diferencias significativas: (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	PUFA (n-3)	PUFA>18C(n-3)
<b>CONTROL</b>	1.46±0.226	0.22±0.026
<i>n</i>	6	6
<b>ATEROGÉNICO</b>	0.96±0.067 <sup>+</sup>	0.21±0.023
<i>n</i>	4	4
<b>OLIVA VIRGEN</b>	1.18±0.108 <sup>a</sup>	0.16±0.027 <sup>a</sup>
<i>n</i>	6	6
<b>OLIVA</b>	1.18±0.048 <sup>a</sup>	0.13±0.016 <sup>a</sup>
<i>n</i>	6	6
<b>GIRASOL</b>	1.06±0.115 <sup>a</sup>	0.17±0.033 <sup>a</sup>
<i>n</i>	6	6
<b>PESCADO</b>	2.26±0.272 <sup>+*b</sup>	1.11±0.209 <sup>+*b</sup>
<i>n</i>	6	6
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 29:** Porcentajes de ácidos grasos PUFA de la serie n-3 y PUFA>18 C de la serie n-3, de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	SFA	MUFA	PUFA
<b>CONTROL</b>	47.54±1.774	34.47±0.679	17.99±1.963
<i>n</i>	6	6	6
<b>ATEROGÉNICO</b>	44.04±0.808 <sup>+</sup>	37.51±0.269 <sup>+</sup>	18.46±0.855
<i>n</i>	4	4	4
<b>OLIVA VIRGEN</b>	42.37±0.657 <sup>+a</sup>	38.33±0.704 <sup>+b</sup>	19.30±0.922 <sup>a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>OLIVA</b>	40.41±0.980 <sup>+*a</sup>	40.12±0.824 <sup>+b</sup>	19.47±0.339 <sup>a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>GIRASOL</b>	41.85±1.223 <sup>+a</sup>	35.49±1.240 <sup>a</sup>	22.65±0.926 <sup>+*b</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>PESCADO</b>	42.84±0.677 <sup>+a</sup>	37.96±1.046 <sup>+ab</sup>	19.20±1.180 <sup>a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 30:** Porcentaje de SFA (ácidos grasos saturados totales), MUFA (ácidos grasos monoinsaturados totales) y PUFA (ácidos grasos poliinsaturados totales) de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.



	SFA/MUFA	SFA/PUFA	UI
<b>CONTROL</b>	1.38±0.056	2.98±0.497	1.56±0.134
<i>n</i>	6	6	6
<b>ATEROGÉNICO</b>	1.17±0.023 <sup>+</sup>	0.88±0.016 <sup>+</sup>	1.72±0.066
<i>n</i>	4	4	4
<b>OLIVA VIRGEN</b>	1.11±0.028 <sup>+ab</sup>	2.23±0.136 <sup>+*b</sup>	1.90±0.089 <sup>+a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>OLIVA</b>	1.01±0.046 <sup>+*a</sup>	2.08±0.078 <sup>+*b</sup>	2.02±0.074 <sup>+*a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>GIRASOL</b>	1.19±0.073 <sup>+b</sup>	0.84±0.024 <sup>+a</sup>	1.98±0.104 <sup>+*a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>PESCADO</b>	1.13±0.037 <sup>+ab</sup>	0.86±0.014 <sup>+a</sup>	1.89±0.061 <sup>+a</sup>
<i>n</i>	6	6	6
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 31:** Porcentajes de índices de SFA/MUFA (ácidos grasos saturados/ácidos grasos monoinsaturados), SFA/PUFA (ácidos grasos saturados/ácidos grasos poliinsaturados) y UI (índice de insaturación) de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

## **5.-PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN MICROSOMAS PANCREÁTICOS**

### **1.- Mirístico (C14:0)**

No se observan diferencias significativas en el porcentaje de este ácido graso entre los grupos C y A, mostrándose ligeramente mayores en este último grupo experimental (Tabla 32).

Tampoco se manifiestan cambios significativos entre los grupos experimentales tratados con los distintos aceites, ni de éstos frente a C. Sí observamos un descenso significativo en los grupos V y G frente a A.

El estudio comparativo entre los citados grupos tratados con los aceites manifiesta los niveles más bajos de este ácido graso en el grupo G. El más elevado corresponde al grupo P, aproximándose así al grupo C (Figura 58).

### **2.- Palmítico (C16:0)**

Se observa un patrón de comportamiento para este ácido graso similar al encontrado para el mirístico, en lo que respecta a los grupos C y A. Así, no encontramos cambios significativos entre ambos grupos experimentales, aunque el grupo A presenta valores mayores (Tabla 32).

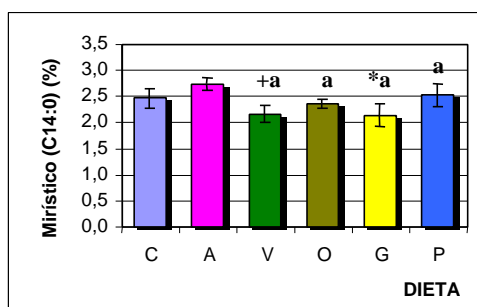
Cualquiera de los grupos tratados con los distintos aceites disminuye el porcentaje de ácido mirístico frente al grupo A, haciéndose significativo en el grupo G.

Por otro lado se observan valores significativamente distintos entre los grupos V y G, aproximándose éste, con valores menores, al grupo C (Figura 59).

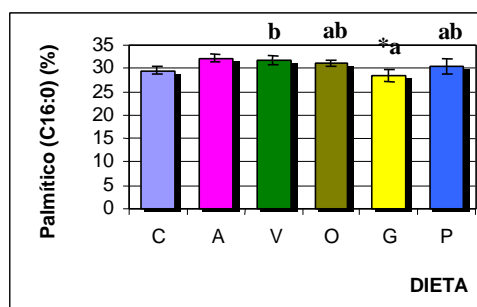
### 3.- Esteárico (C18:0)

Al igual que hemos descrito para los dos ácidos grasos anteriores, no se observan diferencias significativas entre los grupos A y C. No obstante, los datos mayores corresponden al grupo C (Tabla 32).

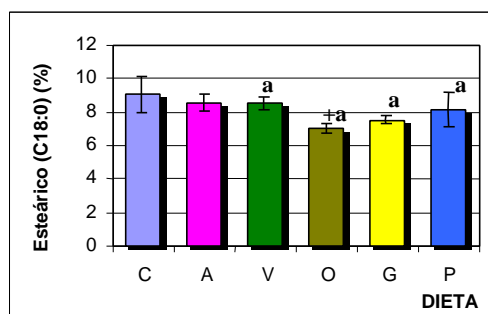
Del mismo modo, no encontramos cambios significativos entre los cuatro grupos tratados con los aceites, ni de éstos frente a los grupos A ó C. Solamente el grupo O muestra valores significativamente menores al grupo A. El grupo V muestra niveles de esteárico próximos al grupo C y el grupo O presenta los más bajos (Figura 60).



**Figura 58:** Porcentaje de ácido mirístico (C14:0) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 59:** Porcentaje de ácido palmítico (C16:0) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (\*) grupos A, V, O, G y P vs C; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 60:** Porcentaje de ácido esteárico (C18:0) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

#### 4.- Miristoleico (C14:1 n9)

No se observan diferencias significativas entre ninguno de los grupos experimentales estudiados, en lo que respecta al porcentaje de este ácido graso (Tabla 33, Figura 61).

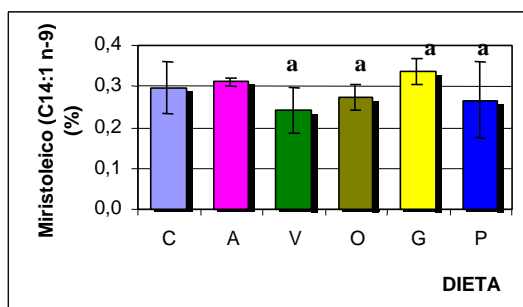
#### 5.- Palmitoleico (C16:1 n9)

El grupo C es el que presenta el porcentaje de ácido palmitoleico más elevado de todos los grupos experimentales, con diferencias significativas frente al grupo V. Los valores más bajos corresponden al grupo A, pero sin mostrar diferencias significativas frente a ningún grupo (Figura 62).

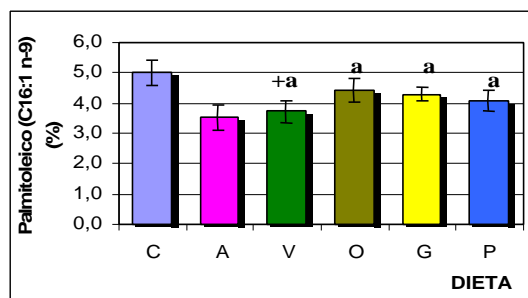
Tampoco se observan cambios significativos entre los grupos tratados con los aceites. De éstos, el grupo O muestra los niveles más elevados de ácido palmitoleico (Tabla 33).

## 6.- Oleico (C18:1 n9)

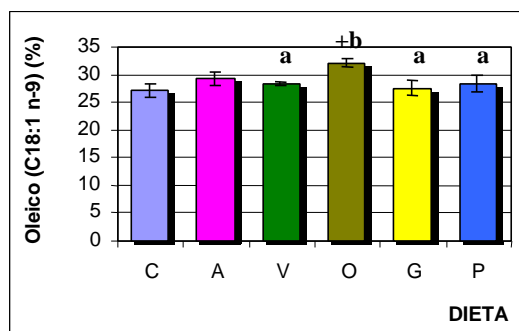
No se manifiestan cambios significativos en el contenido en ácido oleico entre los grupos C y A, siendo algo mayores para este último grupo (Tabla 33). El grupo O es el que presenta el porcentaje más elevado, que muestra diferencias significativas frente al resto de grupos tratados con los aceites. El grupo G muestra niveles más próximos a C (Figura 63).



**Figura 61:** Porcentaje de ácido miristoleico (C14:1 n-9) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 62:** Porcentaje de ácido palmitoleico (C16:1 n-9) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 63:** Porcentaje de ácido oleico (C18:1 n-9) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

### 7.- Linoleico (C18:2 n6)

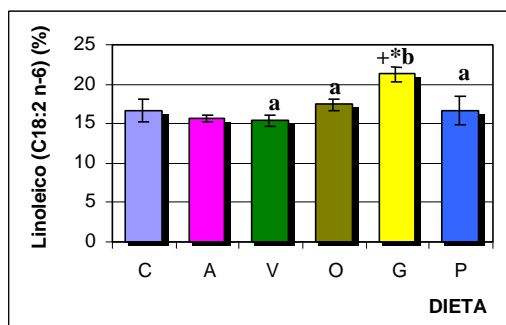
No encontramos diferencias significativas en el porcentaje de ácido linoleico entre los grupos C y A, siendo menores para este último grupo experimental (Figura 64).

Los niveles más elevados de este ácido graso corresponden al grupo G, que se destaca significativamente del resto de grupos experimentales. Los valores más bajos se presentan en el grupo V (Tabla 34).

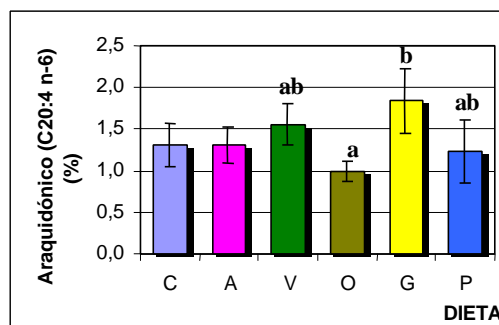
### 8.- Araquidónico (C20:4 n6)

No se observan cambios significativos en el porcentaje de ácido araquidónico entre los grupos C y A, que presentan valores muy similares, ni de ninguno de ellos frente a los grupos que ingieren los distintos aceites (Tabla 34).

El grupo G muestra los niveles más elevados, que muestran diferencias significativas frente al grupo O (Figura 65).



**Figura 64:** Porcentaje de ácido linoleico (C18:2 n-6) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

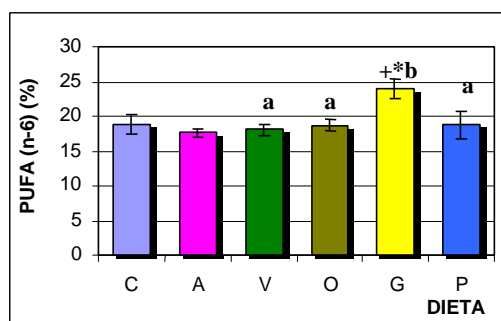


**Figura 65:** Porcentaje de ácido araquidónico (C20:4 n-6) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

### 9.- PUFA (n-6)

No se presentan diferencias significativas entre los grupos C y A, mostrándose algo menores en este último grupo (Tabla 35).

La ingesta de aceite de girasol provoca el porcentaje más elevado de PUFA (n-6). Este incremento es significativo frente al resto de grupos experimentales. El grupo V presenta los valores más bajos (Figura 66).



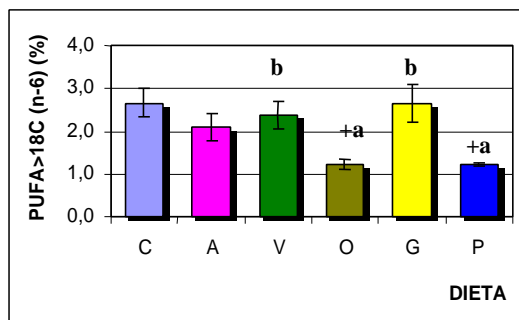
**Figura 66:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 (PUFA n-6) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

### 10.- PUFA>18C (n-6)

No encontramos cambios significativos en el porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n6 entre los grupos C y A, presentándose más bajos en este último grupo (Tabla 35).

El grupo que ingiere aceite de girasol presenta niveles superiores al resto de grupos tratados con los aceites, con diferencias significativas frente a todos, excepto a V. Los grupos O

y G son significativamente más bajos que los del grupo C. Este es el que mayor porcentaje de estos ácidos grasos presenta (Figura 67).



**Figura 67:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados mayores de 18 átomos de carbono de la serie n-6 (PUFA>18C n-6) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

### 11.- Linolénico (C18:3 n3)

Los resultados que se exponen en la Tabla 36 indican que el grupo C muestra el porcentaje más elevado de ácido linolénico, por encima incluso, del grupo P. Estos valores son significativos frente a los grupos A y O.

El grupo A no muestra diferencias significativas frente a ninguno de los grupos tratados con los aceites.

El grupo O es el que presenta los niveles más bajos de este ácido graso. Dichos valores son significativamente distintos frente a cualquiera de los grupos tratados con el resto de aceites (Figura 68).



## 12.- EPA (Ácido Eicosapentaenoico) (C20: 5 n3)

No se encuentran diferencias significativas entre los grupos C y A, mostrándose mayores para este último grupo (Tabla 36).

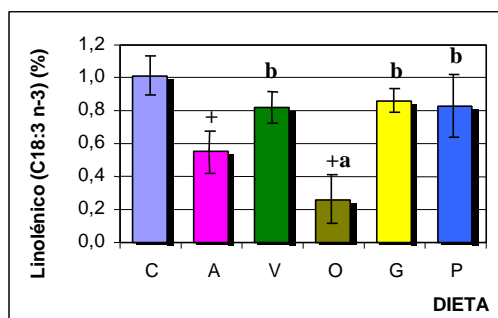
El grupo P es el que presenta un porcentaje más elevado de EPA, con diferencias significativas frente a los grupos C y O. Este último es el que muestra los valores más bajos (Figura 69).

## 13.- DHA (Ácido Docosahexaenoico) (C22:6 n3)

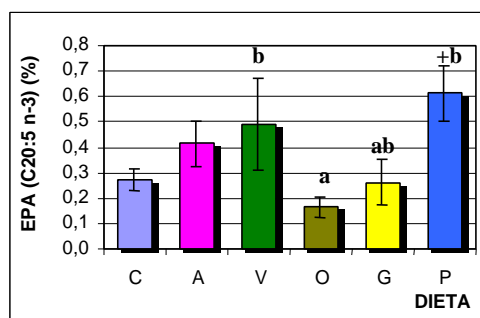
No se observan diferencias significativas entre los grupos C y A, siendo algo menores para este último grupo (Tabla 36).

El grupo que ingiere aceite de pescado es el que muestra un mayor porcentaje de DHA, desligándose de manera significativa del resto de grupos experimentales.

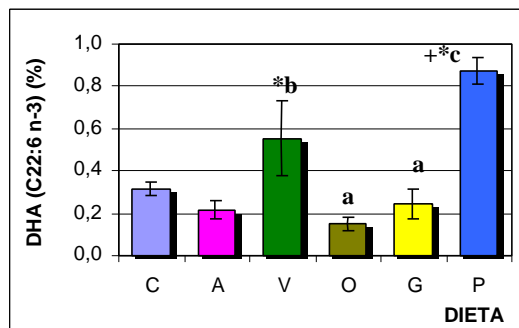
El grupo V muestra niveles significativamente superiores a los grupos A, O y G, acercándose al grupo P. El porcentaje más bajo es observado en el grupo O (Figura 70).



**Figura 68:** Porcentaje de ácido linolénico (C18:3 n-3) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 69:** Porcentaje de ácido eicosapentaenoico (C20:5 n-3) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 70:** Porcentaje de ácido docosahexaenoico (C22:6 n-3) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

#### 14.- PUFA (n-3)

No observamos cambios significativos en el porcentaje de PUFA (n-3) entre los grupos C y A, manifestándose más bajos en este último grupo (Tabla 37).

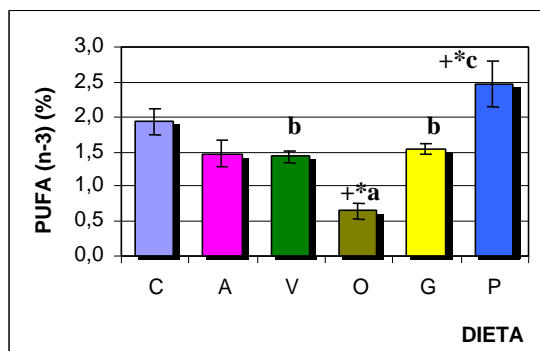
El grupo P es el que presenta los valores más elevados, mostrando diferencias significativas frente al resto de grupos estudiados. Los niveles más bajos se asocian al grupo O, que se desliga de manera significativa de todos los grupos experimentales (Figura 71).

#### 15.- PUFA>18C (n-3)

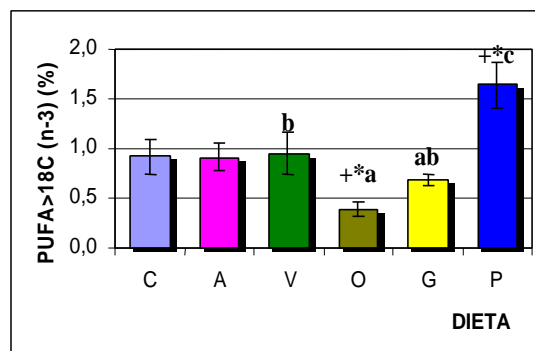
Los porcentajes de PUFA>18C (n-3) observados para los grupos C y A son muy similares, sin mostrar diferencias significativas entre ambos grupos (Tabla 37).

El grupo P es el que presenta los valores más elevados de PUFA>18C (n-3), con diferencias significativas frente al resto de grupos experimentales.

Los niveles más bajos se asocian al grupo O, el cual difiere significativamente de todos los demás, excepto frente a G (Figura 72).



**Figura 71:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (PUFA n-3) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 72:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados mayores de 18 átomos de carbono de la serie n-3 (PUFA > 18C n-3) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

## 16.- SFA (Ácidos grasos saturados totales)

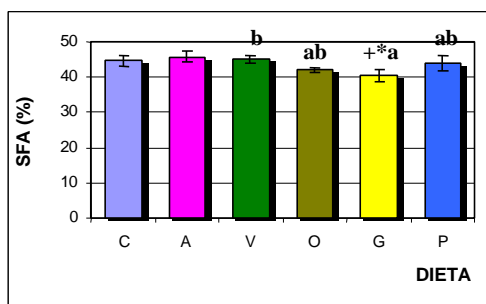
No se presentan diferencias significativas en el porcentaje de ácidos grasos saturados totales entre los grupos C y A, mostrando este último los valores más elevados (Tabla 38).

El grupo G presenta porcentajes más bajos que el resto de grupos experimentales. Estos se hacen significativamente distintos frente a V (Figura 73).

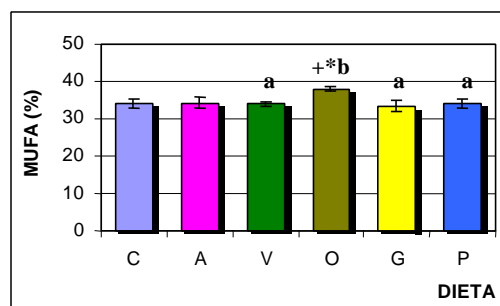
## 17.- MUFA (Ácidos grasos monoinsaturados totales)

No se encuentran cambios significativos en el porcentaje de MUFA entre los grupos C y A, siendo ligeramente mayores para este último grupo (Figura 74).

Los valores más elevados van asociados al grupo O, que muestra diferencias significativas frente a todos los grupos experimentales. Los más bajos se asocian al grupo G (Tabla 38).



**Figura 73:** Porcentaje de ácidos grasos saturados totales (SFA) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

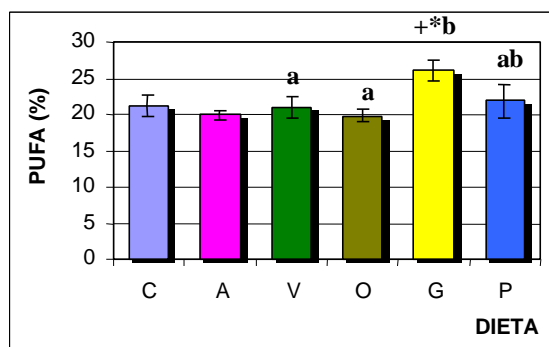


**Figura 74:** Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados totales (MUFA) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

## 18.- PUFA (Ácidos grasos poliinsaturados totales)

No hemos encontrado cambios significativos en el porcentaje de PUFA entre los grupos C y A, mostrándose menores en este último grupo (Figura 75).

El grupo G presenta los valores más elevados, con cambios significativos frente a todos los grupos, excepto a P. Los valores más bajos corresponden al grupo O (Tabla 38).



**Figura 75:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados totales (PUFA) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

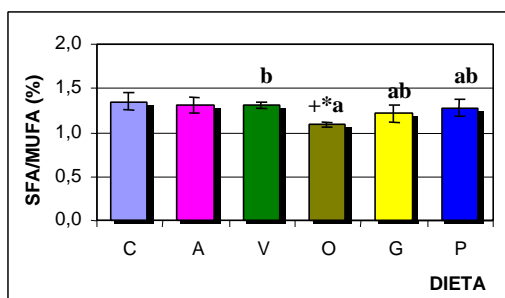
### 19.- SFA/MUFA

Los niveles más elevados en el porcentaje SFA/MUFA se presentan en el grupo C, aunque sin mostrar diferencias significativas frente al grupo A (Tabla 39). Ambos grupos se diferencian significativamente del grupo O, que presenta los valores más bajos y significativamente diferentes también frente a V (Figura 76).

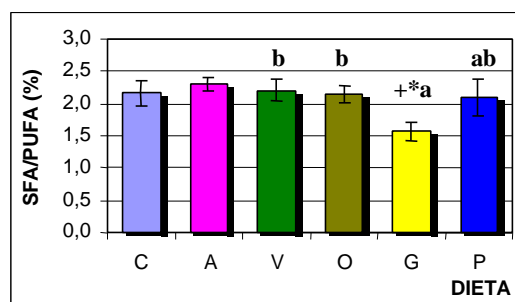
### 20.- SFA/PUFA

No se observan diferencias significativas en el porcentaje de SFA/PUFA entre los grupos C y A, aunque se presentan mayores en este último grupo (Figura 77).

Los valores más bajos se observan en el grupo G. Este muestra diferencias significativas frente a todos los grupos experimentales, excepto a P (Tabla 39).



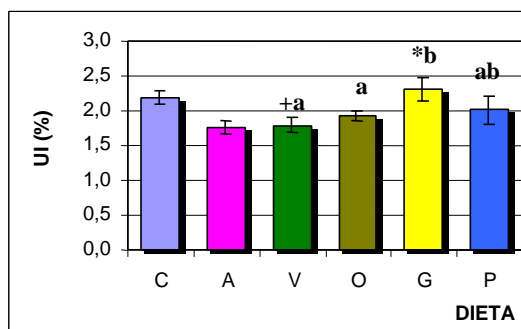
**Figura 76:** Índice SFA/MUFA de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 77:** Índice SFA/PUFA de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

## 21.- UI (Índice de insaturación)

Los grupos C y A muestran índices de insaturación significativamente distintos, siendo menores en este último grupo (Tabla 39).



**Figura 78:** Índice de insaturación (UI) de membranas microsomales, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

El porcentaje más elevado corresponde al grupo G, que se manifiesta significativamente distinto a A, V y O. Los niveles menores se presentan en el grupo V, haciéndose significativos también frente a C (Figura 78).

	Mirístico (C14:0)	Palmítico (C16:0)	Esteárico (C18:0)
<b>CONTROL</b>	2.47± 0.193	29.58±0.942	9.05±1.037
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>ATEROGÉNICO</b>	2.75±0.112	32.20± 0.902	8.56±0.496
<i>n</i>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>OLIVA VIRGEN</b>	2.16± 0.165 <sup>+a</sup>	31.69±1.055 <sup>b</sup>	8.56± 0.373 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>OLIVA</b>	2.37±0.090 <sup>a</sup>	31.06±0.699 <sup>ab</sup>	7.03±0.258 <sup>+a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>GIRASOL</b>	2.14± 0.218 <sup>*a</sup>	28.36±1.336 <sup>*a</sup>	7.54±0.279 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>PESCADO</b>	2.52±0.221 <sup>a</sup>	30.44±1.554 <sup>ab</sup>	8.19±1.042 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 32:** Porcentaje de ácidos grasos saturados (mirístico: C14:0, palmítico: C16:0 y esteárico: C18:0) de microsomas pancreáticos, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	Miristoleico (C14:1 n9)	Palmitoleico (C16:1 n9)	Oleico (C18:1 n9)
<b>CONTROL</b>	0.30±0.063	4.99±0.421	27.17±1.091
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>ATEROGÉNICO</b>	0.31±0.010	3.52±0.418	29.29±1.117
<i>n</i>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>OLIVA VIRGEN</b>	0.24±0.055 <sup>a</sup>	3.72±0.355 <sup>+a</sup>	28.40±0.410 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>OLIVA</b>	0.27±0.031 <sup>a</sup>	4.44±0.394 <sup>a</sup>	32.06±0.723 <sup>+b</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>GIRASOL</b>	0.33±0.032 <sup>a</sup>	4.29±0.227 <sup>a</sup>	27.54±1.311 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>PESCADO</b>	0.27±0.092 <sup>a</sup>	4.08±0.340 <sup>a</sup>	28.35±1.392 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 33:** Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados (palmitoleico: C18:1 n-9 y oleico: C18:1 n-9) de microsomas pancreáticos, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.



	Linoleico (C18:2 n-6)	Araquidónico (C20:4 n-6)
<b>CONTROL</b>	16.64±1.368	1.30±0.257
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>ATEROGÉNICO</b>	15.64±0.378	1.31±0.222
<i>n</i>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>OLIVA VIRGEN</b>	15.38±0.700 <sup>a</sup>	1.56±0.255 <sup>ab</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>OLIVA</b>	17.45±0.689 <sup>a</sup>	0.99±0.120 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>GIRASOL</b>	21.24±1.006 <sup>+*b</sup>	1.84±0.385 <sup>b</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>PESCADO</b>	16.69±1.898 <sup>a</sup>	1.22±0.378 <sup>ab</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 34:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n6 (linoleico: C18:2 n-6 y araquidónico: C20:4 n-6) de microsomas pancreáticos, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	PUFA (n-6)	PUFA>18C (n-6)
<b>CONTROL</b>	18.91±1.428	2.67±0.325
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>ATEROGÉNICO</b>	17.56±0.647	2.09±0.330
<i>n</i>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>OLIVA VIRGEN</b>	18.08±0.836	2.38±0.312
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>OLIVA</b>	18.68±0.804	1.23±0.127
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>GIRASOL</b>	23.89±1.350	2.65±0.445
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>PESCADO</b>	18.73±1.988	1.23±0.040
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 35:** Porcentajes de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n6 (PUFA n-6) y ácidos grasos poliinsaturados de la serie n3 mayores de 18 átomos de carbono (PUFA n-6 >18 C) de microsomas pancreáticos, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. Diferencias significativas: (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	Linolénico (C18:3 n3)	EPA (C20:5 n3)	DHA (C22:6 n3)
<b>CONTROL</b>	1.01±0.120	0.27±0.041	0.31±0.028
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>ATEROGÉNICO</b>	0.55±0.127 <sup>+</sup>	0.41±0.090	0.21±0.045
<i>n</i>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>OLIVA VIRGEN</b>	0.81±0.095 <sup>b</sup>	0.49±0.177 <sup>b</sup>	0.55±0.180 <sup>*b</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>OLIVA</b>	0.26±0.150 <sup>+a</sup>	0.16±0.039 <sup>a</sup>	0.15±0.035 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>GIRASOL</b>	0.86±0.074 <sup>b</sup>	0.26±0.091 <sup>ab</sup>	0.25±0.071 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>PESCADO</b>	0.83±0.190 <sup>b</sup>	0.61±0.109 <sup>+b</sup>	0.87±0.063 <sup>+*c</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 36:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n3 (linolénico: C18:3 n-3, eicosapentaenoico, EPA: C20:5 n-3 y docosahexaenoico, DHA: C22:6 n-3) de microsomas pancreáticos, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	PUFA (n-3)	PUFA>18C (n-3)
<b>CONTROL</b>	1.93±0.186	0.917 +/- 0.167
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>ATEROGÉNICO</b>	1.47±0.186	0.91±0.143
<i>n</i>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>OLIVA VIRGEN</b>	1.43±0.091	0.95±0.213
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>OLIVA</b>	0.65±0.116	0.39±0.069
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>GIRASOL</b>	1.54±0.075	0.68±0.056
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>PESCADO</b>	2.47±0.324	1.64±0.234
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 37:** Porcentajes de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n3 (PUFA n-3) y ácidos grasos poliinsaturados de la serie n3 mayores de 18 átomos de carbono (PUFA n-3 >18 C) de microsomas pancreáticos, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

	SFA	MUFA	PUFA
<b>CONTROL</b>	44.63±1.418	34.12±1.315	21.25±1.417
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>ATEROGÉNICO</b>	45.83±1.440	34.35±1.527	19.99±0.618
<i>n</i>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>OLIVA VIRGEN</b>	45.15±0.978 <b>b</b>	33.98±0.654 <b>a</b>	20.86±1.470 <b>a</b>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>OLIVA</b>	42.16±0.683 <b>ab</b>	38.03±0.688 <b>+*b</b>	19.80±0.847 <b>a</b>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>GIRASOL</b>	40.41±1.683 <b>+*a</b>	33.46±1.490 <b>a</b>	26.13±1.397 <b>+*b</b>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>PESCADO</b>	43.90±2.040 <b>ab</b>	34.25±1.320 <b>a</b>	21.85±2.281 <b>ab</b>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 38:** Porcentaje de SFA (ácidos grasos saturados totales), MUFA (ácidos grasos monoinsaturados totales) y PUFA (ácidos grasos poliinsaturados totales) de microsomas pancreáticos, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

	SFA/MUFA	SFA/PUFA	UI
<b>CONTROL</b>	1.35±0.099	2.16±0.194	2.19±0.089
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>ATEROGÉNICA</b>	1.31±0.086	2.30±0.107	1.76±0.098 <sup>+</sup>
<i>n</i>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>
<b>OLIVA VIRGEN</b>	1.31±0.040 <sup>b</sup>	2.21±0.169 <sup>b</sup>	1.79±0.107 <sup>+a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>OLIVA</b>	1.09±0.030 <sup>+*a</sup>	2.15±0.123 <sup>b</sup>	1.93±0.066 <sup>a</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>GIRASOL</b>	1.21±0.096 <sup>ab</sup>	1.56±0.139 <sup>+*a</sup>	2.31±0.169 <sup>*b</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>PESCADO</b>	1.28±0.094 <sup>ab</sup>	2.10±0.286 <sup>ab</sup>	2.01±0.199 <sup>ab</sup>
<i>n</i>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>n total</b>	<b>34</b>	<b>34</b>	<b>34</b>

**Tabla 39:** Porcentajes de índices de SFA/MUFA (ácidos grasos saturados/ácidos grasos monoinsaturados), SFA/PUFA (ácidos grasos saturados/ácidos grasos poliinsaturados) y UI (índice de insaturación) de microsomas pancreáticos, de los diferentes grupos experimentales: control (C), aterogénico (A), aceite de oliva virgen (V), aceite de oliva (O), aceite de girasol (G) y aceite de pescado (P). Los valores expresan la media ± SEM. Diferencias significativas: (+) grupos A, V, O, G y P vs C; (\*) grupos C, V, O, G y P vs A; medias con letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P. p<0.05.

# DISCUSIÓN





**L**a relación existente entre la grasa de la dieta y distintas patologías degenerativas ha ocasionado que, en las últimas décadas, se le venga prestando una atención especial a dicho nutriente. Su papel en el desarrollo y/o prevención de las mismas fundamentalmente ha venido enfocando los estudios hacia las enfermedades cardiovasculares y determinados tipos de neoplasias, mientras que las alteraciones gastrointestinales han sido menos investigadas. Pero cabe destacar que, las patologías relacionadas con el sistema digestivo y las secreciones directamente relacionadas con él, constituyen una serie de enfermedades que afectan a un elevado porcentaje de individuos, en los países occidentales.

Las enfermedades del sistema cardiovascular constituyen la primera causa de mortalidad en el mundo desarrollado. Por otra parte, cabe destacar que las alteraciones que, de manera más importante contribuyen a ellas, son debidas al desarrollo de procesos ateroscleróticos. Estos procesos conllevan, como se ha citado, degeneración de las principales arterias del organismo (coronarias y cerebrales) (aunque no exclusivamente de éstas) y, puesto que son de carácter obstructivo, dan lugar a accidentes cerebrovasculares, enfermedad isquémica cardíaca y apoplejía.

A pesar de que se trata de una problemática antigua, las consecuencias patológicas de la aterosclerosis se han convertido en un fenómeno “epidémico” en el último medio siglo, debido principalmente, a los cambios sufridos por nuestra sociedad en los hábitos alimentarios, así como en el estilo de vida, estrés, etc.

Numerosos estudios vienen poniendo de manifiesto la relación existente entre el desarrollo de aterosclerosis y la alteración del metabolismo lipídico, a nivel plasmático (Kannel,

et al., 1989), positivamente asociada esta última a concentraciones elevadas de colesterol y de LDL (Keys, et al., 1954; Keys, 1970; Dawber, 1980; Castelli, 1984), así como de Lp(a) (Loscalzo, 1990) y negativamente con la de HDL (Castelli and Anderson, 1986).

Dado el carácter sistémico de la aterosclerosis, también han sido objeto de estudio otros órganos y tejidos afectados (hepático, biliar, renal, inmune, etc), como se ha citado en el capítulo correspondiente a antecedentes bibliográficos (ver antes).

El estudio de la influencia de los procesos ateroscleróticos a nivel gastrointestinal, y en concreto sobre el páncreas, pertenece sin embargo, a un campo menos investigado. Por otra parte, la función del tracto gastrointestinal depende, en gran medida, de la naturaleza del alimento ingerido, destacando el papel importante de la grasa de la dieta, en términos tanto cuantitativos como cualitativos.

La capacidad adaptativa del páncreas exocrino a la dieta viene determinada por el nivel de síntesis y secreción de las enzimas pancreáticas. Quiere ello decir que, el nivel intracelular de las mismas no es constante, sino que se adapta a los cambios en la ingesta de alimento. Por otra parte, y como se sabe, estímulos diferentes, de tipo nervioso y hormonal, están implicados en el proceso digestivo. Sin embargo, los mecanismos que median esta adaptación son escasamente conocidos en el caso de la grasa.

Existen estudios que revelan una regulación de distintos mediadores de la secreción de enzimas pancreáticas (Allen, et al., 1983), así como cambios en los niveles de las mismas (Brodt-Eppley and Hui, 1994; Hess, et al., 1998), en el transcurso de la hipercolesterolemia. También se ha puesto de manifiesto el desarrollo de pancreatitis como consecuencia de una obstrucción aterosclerótica a nivel pancreático (Moolenaar and Lamers, 1996; Tanaka, et al., 1998).

Por otra parte, tanto el colesterol como los ácidos grasos asociados a las membranas celulares están implicados en la regulación de importantes funciones para la célula, como mecanismos de secreción y exocitosis. Así pues, estos componentes modulan numerosas señales

de transducción celular (Chamberlain, et al., 2001; Schmidt, et al., 2001), entre otras, movimientos de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular implicados en la secreción de enzimas, en función del grado de fluidez de dichas membranas. Esta fluidez vendrá determinada por su contenido en colesterol y por el grado de insaturación de los ácidos grasos que la constituyen (Simkiss, 1998).

A la luz de lo descrito, y puesto que el gránulo de zimógeno, orgánulo de almacenamiento de las enzimas digestivas del páncreas exocrino, representa un modelo clásico de exocitosis y secreción regulada a nivel de membrana (Wagner and Williams, 1994) pensamos que, también a nivel pancreático, el contenido de enzimas digestivas en la célula acinar pueda modificarse en respuesta a cambios en la cantidad y tipo de grasa aportada en la dieta. Estos cambios afectarían a la composición lipídica de las membranas celulares, con modificaciones posteriores en la funcionalidad de las mismas, modulando las señales de transducción, que determinarían la secreción enzimática del páncreas exocrino. De ahí el objeto de este estudio.

El diseño experimental empleado, cuyo objetivo inicial era el desarrollo de aterosclerosis experimental, inducida por la dieta, ha permitido estudiar también la respuesta adaptativa del páncreas exocrino a esta enfermedad, así como los posibles efectos terapéuticos de distintas fuentes grasas en respuesta a la misma.

El conejo de raza New Zealand es aceptado para el desarrollo de esta patología, dada la rapidez en su respuesta cuando es alimentado con una dieta aterogénica, alta en grasa saturada y colesterol, asemejándose al modelo de aterosclerosis en humanos. Sin embargo, ésta ha sido una especie escasamente empleada en el estudio de la adaptación pancreática a la dieta. La mayoría de trabajos en este sentido han sido realizados en ratas (Deschodt-Lanckman, et al., 1971; Sabb, et al., 1986; Wicker and Puigserver, 1987), perros (Ballesta, et al., 1990; Mañas, et al., 1996) o humanos (Yago, 1995).

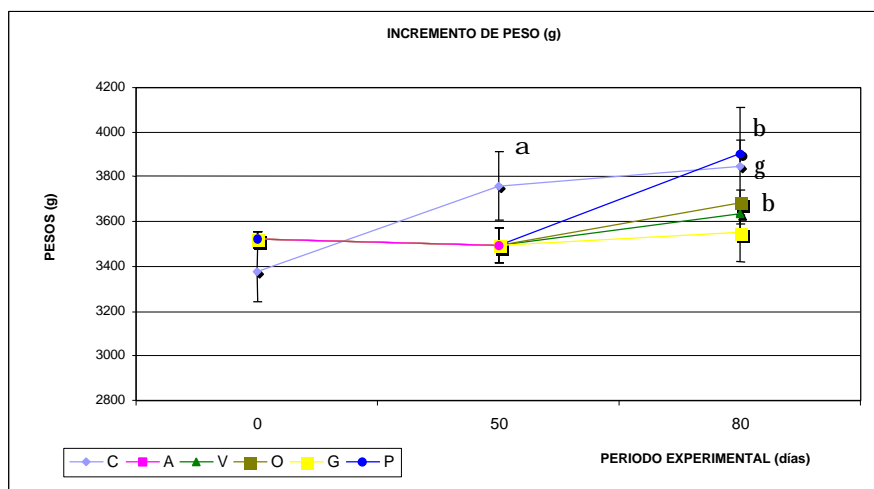
El periodo de tiempo empleado para el desarrollo de la enfermedad (50 días) y la posterior ingesta de los distintos tipos de grasa (30 días) han posibilitado el estudio de las modificaciones adaptativas del páncreas exocrino en estas condiciones experimentales. Así pues, la importancia de este diseño radica en varios aspectos importantes:

- a) No existen estudios acerca de los efectos de la aterosclerosis inducida por la dieta sobre la adaptación del páncreas exocrino.
- b) Son escasos los trabajos de adaptación pancreática a la grasa de la dieta en conejos.
- c) No se ha investigado prácticamente el efecto de este tipo de dietas sobre la composición lipídica de las membranas en tejido pancreático, y los trabajos realizados han sido en ratas, por lo que no son comparativos.
- d) A pesar de los cada vez más numerosos estudios sobre la modulación de las señales de transducción celular en el páncreas exocrino, y de la regulación de la expresión génica de las enzimas pancreáticas, son escasos los trabajos referentes al efecto de la cantidad y tipo de grasa alimentaria sobre las mismas.

## **1.-PESO CORPORAL**

Durante el periodo experimental, y para todas las dietas utilizadas, se controló el peso de los animales (Tabla 18). El grupo control incrementó de forma significativa su peso corporal en los primeros 50 días, manteniéndose en una meseta durante el último mes (Figura 79). Los animales alimentados con la dieta aterogénica (rica en colesterol y grasa saturada) a diferencia de los controles, sufren una disminución en su peso corporal ( $3760 \text{ g} \pm 151.9$  vs  $3494 \text{ g} \pm 80.2$ ), a pesar de que el contenido en grasa de la dieta, y por tanto, la ingesta calórica, es superior. Esta disminución del peso corporal puede ser debida al desarrollo de aterosclerosis y a los daños hepáticos puestos de manifiesto en estos animales por Aguilera (1999); sin embargo, este descenso no tiene significación estadística. Al observar los pesos individuales de los conejos al final del periodo de 50 días, encontramos una gran variabilidad; creemos que es resultado de la diferente sensibilidad de los distintos animales a la dieta aterogénica y a la gravedad de las lesiones producidas (esteatohepatitis). De hecho, esta variabilidad es la causa de que no sea patente un descenso significativo del peso corporal de los animales.

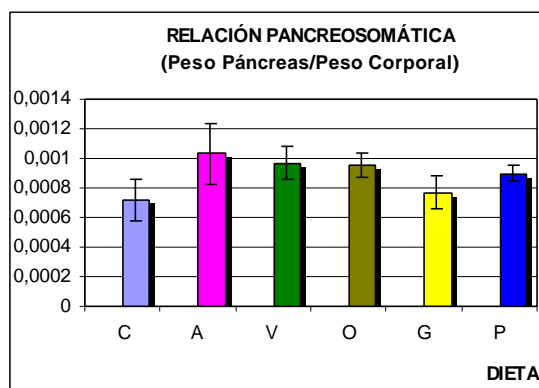
Tras el consumo de dietas ricas en los distintos tipos de grasas dietéticas (30 días), el peso corporal de los animales sufre un incremento, alcanzando valores semejantes a los que presentaban los animales del grupo control en el mismo punto temporal (80 días). Los incrementos en este periodo se muestran significativos en los grupos pescado, oliva virgen y oliva, y no en girasol (Figura 79). A pesar de que la ingesta calórica de los animales es semejante a la de los 50 días previos, los incrementos ponderales observados pueden atribuirse a una mejora en la función hepática de los mismos (Aguilera, 1999) y en general al estado del animal. No pensamos que haya diferencias entre los distintos grupos durante los últimos 30 días en la evolución ponderal y, por tanto, creemos que el tipo de grasa no afecta a este parámetro.



**Figura 79:** Incremento de peso, a lo largo del tiempo, de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. Estadística: indica diferencias significativas a lo largo del tiempo para un mismo grupo experimental; ( $\alpha$ ) entre los días 0 y 50; ( $\beta$ ) entre los días 50 y 80; ( $\gamma$ ) entre los días 0 y 80.  $p < 0.05$ .

## 2.-PESO Y CONTENIDO EN PROTEÍNA Y COLESTEROL DEL PÁNCREAS

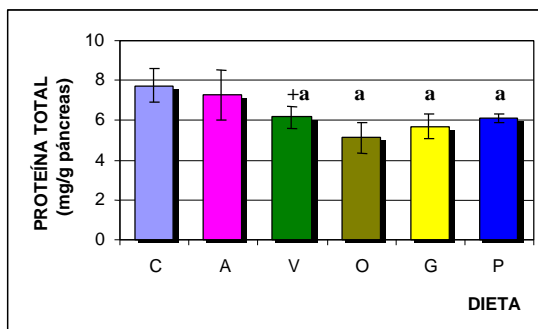
El peso del páncreas, independientemente del grupo considerado, es semejante en los distintos grupos experimentales, como se observa en la Tabla 20, con valores comprendidos entre  $2.71 \text{ g} \pm 0.359$  y  $3.50 \text{ g} \pm 0.224$ ; esto parece indicar que la dieta aterogénica no tiene una especial incidencia sobre esta glándula, a diferencia de lo descrito por Aguilera (1999) para el peso del hígado, el cual presenta un incremento, debido a un acúmulo de grasa en hepatocitos (esteatohepatitis).



**Figura 80:** Relación pancreosomática (Peso Páncreas/Peso Corporal) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

Nuestros resultados corroboran lo descrito por otros autores en esta misma especie, que tampoco muestran diferencias significativas en el peso glandular con dietas que aportan del 2.7 al 12% de grasa (Borel, et al., 1991). La relación pancreatosomática (peso páncreas/peso corporal) tampoco se altera (Figura 80).

A pesar de que se ha descrito que los aumentos en la ingesta calórica y de grasa en la dieta pueden provocar alteraciones pancreáticas (pancreatitis) (Chowdhury et al., 2000), en nuestras condiciones experimentales, el aspecto que presentaban los páncreas era macroscópicamente normal. Esta normalidad del páncreas se ve corroborada por su contenido en proteína total (mg/g páncreas), parámetro que tampoco muestra diferencias significativas entre los distintos grupos experimentales (Figura 81).



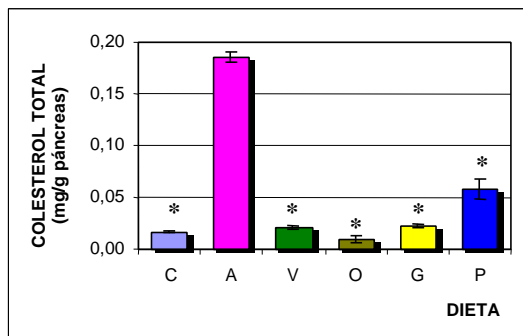
**Figura 81:** Contenido en proteína total de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P ( $p < 0.05$ ).

La ausencia de cambios ponderales en la glándula y de su contenido en proteína total, nos indica que no parecen existir alteraciones que cursen con hipertrofia o hiperplasia glandular.

Todo ello pone de manifiesto que en nuestro modelo experimental no aparecen alteraciones morfológicas importantes del páncreas. Asimismo, Jacobs (1983) observa en ratas

cómo la ingesta de dietas altas en grasa (30%) no produce crecimiento celular pancreático a corto plazo (cuatro semanas), a pesar de manifestar hipoplasia a nivel de intestino delgado.

El único parámetro que sufre un incremento significativo es el contenido en colesterol total del páncreas, en los animales que consumieron la dieta aterogénica frente a los del grupo control (Figura 82).



**Figura 82:** Contenido en colesterol total en tejido pancreático (mg/g páncreas) de los diferentes grupos experimentales: (C) control, (A) aterogénico, (V) oliva virgen, (O) oliva, (G) girasol y (P) pescado. Los valores expresan la media  $\pm$  EEM. (+) A, V, O, G y P vs C; (\*) C, V, O, G y P vs A; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

Tras la administración de los diferentes aceites, los niveles de colesterol en la glándula disminuyen de forma marcada alcanzando, en todos los casos, valores similares a los encontrados en el grupo control. En el grupo que ingirió aceite de pescado, estos valores son ligeramente más elevados, lo que puede atribuirse a la presencia, en este aceite, de pequeñas cantidades de colesterol.

En el páncreas, el colesterol se encuentra, casi exclusivamente, en las membranas celulares; debemos pensar que, el grupo aterogénico tendrá sus membranas pancreáticas con mayor contenido en colesterol, al compararlas con las de los demás grupos experimentales.

Se sabe que el colesterol presente en la membrana de la célula eucariota evita que las cadenas hidrocarbonadas de la misma se reúnan y cristalicen (Alberts, et al., 1994). Asimismo, se ha demostrado que los microdominios de colesterol presentes en las membranas son críticos para el mantenimiento de la viabilidad celular (Zager, 2000). Además, es conocido que este componente está inversamente relacionado con la fluidez de las mismas (Chapman and Benga, 1984; Spector and Yorek, 1985; Yeagle, 1985; Quinn and Cherry, 1992; Subczynski and Wisniewska, 2000). Este hecho es puesto de manifiesto por Gillies and Robinson (1988) en



aorta de conejos con aterosclerosis experimental, tras ser alimentados con un 0.5% de colesterol en la dieta, durante diez semanas. En esta misma especie, la membrana eritrocitaria muestra también estos cambios de fluidez, como consecuencia de la acumulación de moléculas de colesterol, por la ingesta de una dieta aterogénica (Torkhovskaia, et al., 1980). Levy, et al. (1992) demuestran resultados similares en humanos con hipercolesterolemia severa.

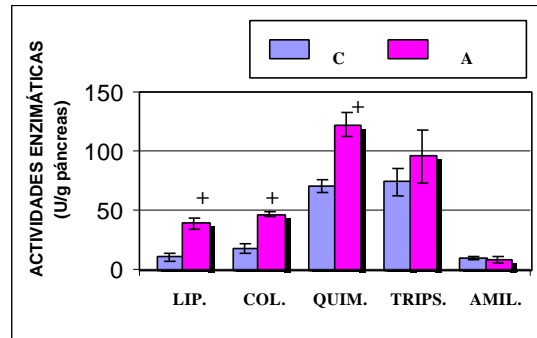
Los cambios en el contenido en colesterol de membrana afectan a las señales de transducción celular (Kurzchalia and Parton, 1999), modificando, por ejemplo, los niveles de  $Ca^{2+}$  intracelular y la actividad de distintas proteínas de membrana con actividad enzimática (Raes, et al., 1995; Santiago-García, et al., 2000). Estudios realizados con objeto de observar el papel del colesterol de membrana en la secreción de enzimas digestivas y en la formación del gránulo de zimógeno, indican que estos procesos se ven reducidos cuando se produce una disminución de colesterol en dichas membranas. Estos resultados resaltan la importancia que tiene un mayor o menor contenido en colesterol en la membrana acinar pancreática, para la regulación de los fenómenos secretores (Schmidt, et al., 2001).

### **3.-CONTENIDO EN ENZIMAS PANCREÁTICAS**

#### **3.1.-EFECTOS DE LA DIETA ATEROGENICA SOBRE EL CONTENIDO EN ENZIMAS DEL PÁNCREAS**

El análisis del contenido en enzimas del páncreas en nuestro estudio pone de manifiesto que, tras el periodo de ingestión de la dieta aterogénica, ocurren modificaciones en el mismo. Estos cambios parecen estar relacionados con las variaciones introducidas en la composición de la dieta durante un periodo de 50 días, que afectan al contenido en colesterol y cantidad de grasa (con un alto contenido en ácidos grasos saturados), habiendo también un ligero incremento en la ingesta calórica (15%).

Los niveles pancreáticos de lipasa, colipasa y quimiotripsina están significativamente incrementados en los animales que ingieren la dieta aterogénica, la tripsina no se modifica y la amilasa disminuye (Figura 83).



**Figura 83:** Actividades, expresadas como U/g páncreas, de lipasa (lip), colipasa (col), quimiotripsina (quim), tripsina (trips) y amilasa (amil) pancreáticas, del grupo control (C) frente al aterogénico (A). Los valores indican la media  $\pm$  EEM. (+) grupo A vs al grupo C.  $p < 0.05$ .

De acuerdo con la bibliografía, hemos expresado el contenido en enzimas de diferentes formas, por gramo de glándula, contenido total en la glándula y por miligramo de proteína total. Puesto que no existen diferencias en el peso del páncreas ni en el contenido en proteína del mismo, los tres sistemas de expresión enzimática nos muestran valores semejantes que no presentan, en general, significación estadística entre ellos y que siguen comportamientos semejantes.

Este comportamiento nos habla de la existencia de una adaptación de la glándula a los cambios en los niveles de grasa de la dieta (3.1% en peso en la dieta control y 7.9% en la dieta aterogénica). Distintos autores han puesto de manifiesto en diferentes especies este hecho:

En humanos, la secreción interdigestiva y postprandial de enzimas pancreáticas se muestra mayor con la ingesta de dietas altas en grasa (40% de las kcal totales) que con dietas elevadas en carbohidratos (50-80%) (Boivin, et al., 1990).

Todos los trabajos en rata manifiestan una clara y rápida respuesta adaptativa de esta especie al contenido graso de la dieta, con incrementos para lipasa pancreática en el nivel de ARNm específico, grado de síntesis y actividad (Deschodt-Lanckman, et al., 1971; Snook, 1971; Bazin and Lavau, 1979; Sabb, et al., 1986; Wicker and Puigserver, 1987; Hirschi, et al., 1991). Otros autores describen asimismo incrementos significativos de la secreción enzimática en esta especie, tras adaptación a dietas altas en grasa (20% del contenido calórico total) frente a otras de contenido más bajo (5% de las kcal totales) (Spannagel, et al., 1996). Houghton, et al. (1983) indican que la ingesta de dietas con alto contenido en grasa durante un periodo de 6 meses, modifica la secreción pancreática, con incrementos en las actividades de lipasa y tripsina. En términos generales, el grado de incremento en la actividad lipásica está directamente relacionado con el nivel de grasa aportado en la dieta. Así, se ha demostrado que, aportes del 10% de grasa incrementan 1.4 veces la actividad lipásica en ratas, modificándose ésta en 2.4 veces tras la ingesta de dietas con un 30% de contenido graso (Wicker, et al., 1988).

La sustitución de un 15% de almidón por un 15% de aceite de colza provoca en cerdos, tras periodos cortos de adaptación (12-24 h), incrementos significativos en la secreción de lipasa, acompañados de descensos, también significativos, en la secreción de amilasa pancreática (Ozimek, et al., 1995).

En perro también se han encontrado aumentos en la secreción enzimática, con la infusión intraduodenal de dietas elementales altas en grasa (Lewis and Freeman, 1977). Sin embargo, estudios realizados por nuestro grupo en animales provistos de fístula pancreática crónica, adaptados a corto plazo (8 días) a dietas ricas en grasa, ponen de manifiesto ausencia de adaptación de la secreción de enzimas pancreáticas a la cantidad de grasa de la dieta, al no mostrar cambios significativos con la ingesta de dietas con alto contenido en grasa o en carbohidratos; no obstante, esto no implica que no exista adaptación a largo plazo (Mañas, et al., 1996).

En el conejo, Borel, et al. (1991) encuentran incrementos en la actividad de la lipasa pancreática con niveles de grasa en la dieta del 12%, tras dos semanas de adaptación, no encontrando cambios con niveles dietéticos del 6% durante el mismo periodo de tiempo. En

nuestras condiciones experimentales, es decir, con niveles de grasa en la dieta del 7.9% y un periodo de adaptación de 50 días, encontramos aumentos significativos en la actividad lipásica. Esto parece indicar que en esta especie, la adaptación del páncreas a la grasa de la dieta es dependiente tanto de los niveles de este nutriente como del tiempo de adaptación.

En lo concerniente a la respuesta adaptativa de colipasa pancreática a la dieta, los datos existentes son variables. Existen trabajos en ratas que apuntan hacia una mayor sensibilidad adaptativa de la colipasa a la proteína que a la de grasa de la dieta (Ouagued, et al., 1980). Estos autores observan incrementos en la actividad colipásica con dietas altas en caseína, incluso cuando éstas son pobres en grasa (2%). Otros estudios muestran resultados similares a los nuestros, encontrando una respuesta adaptativa de la colipasa a niveles elevados de grasa en la dieta, independiente de cambios en la lipasa (Girard-Globa and Bourdel, 1983) o paralelos a ellos (Wicker and Puigserver, 1987). Wicker and Puigserver (1990) demuestran una inducción, aunque moderada, de los niveles de ARNm de colipasa en rata, en respuesta a dietas ricas en grasa.

Los incrementos observados en la actividad quimiotripsina, tras la ingesta de la dieta aterogénica, ponen de manifiesto una adaptación de esta proteasa a la cantidad de grasa ingerida, tal y como muestran estudios previos rata (Deschodt-Lanckman, et al., 1971; Snook, 1971; Saraux, et al., 1982; Girard-Globa and Bourdel, 1983). No obstante, esta enzima no parece ser inducida cuando la ingesta de grasa es muy elevada a expensas de aportes demasiado bajos en carbohidratos (<2%), según Snook (1971). Otros estudios establecen sin embargo, que en la rata, esta adaptación sólo se produce cuando la ingesta lipídica es muy alta, del orden de 62 y 74% de las kcal totales, no ocurriendo así para ingestas del 12-49% de las kcal (Wicker and Puigserver, 1987).

En el visón, se observa una ausencia de incrementos en la actividad de estas enzimas pancreáticas, tras la ingesta de una dieta elevada en grasa (Simoes-Nunes, 1985). Estudios realizados en cerdos alimentados con niveles altos de grasa dietética (70%) tampoco demuestran cambios significativos en la actividad de tripsina o quimiotripsina (Flores, C.A., et al., 1988).

Estos incrementos suelen ir paralelos a los cambios en la actividad de la lipasa. Sin embargo, estudios realizados en cerdos alimentados durante 30 días con un alto contenido en grasa (70% kcal) no muestran cambios en la actividad de quimiotripsina, aunque sí de lipasa pancreática (Flores, et al., 1988).

El descenso en la actividad amilásica, observada en nuestro estudio tras la ingesta de la dieta aterogénica, corrobora los resultados encontrados en la documentación bibliográfica existente, que ponen de manifiesto que el aumento en el contenido graso de la dieta provoca una disminución de dicha actividad en rata (Sommer and Kasper, 1981; Wicker and Puigserver, 1987; Akiyama, et al., 1996). En esta especie, el efecto de variaciones en la proporción entre grasa/carbohidratos, en dietas isonitrogenadas administradas durante un periodo de dos semanas, modifica la actividad enzimática, de modo que, la sustitución de carbohidratos por grasa (de 10 a 70% del contenido calórico) reduce la actividad amilásica de manera significativa (del 90 al 60%), mientras se observan incrementos paralelos en las actividades de lipasa (70-80%) y quimiotripsina (40%) (Snook, 1971), tal y como muestran nuestros resultados. En cerdos, el aumento en la ingesta grasa (3.5 vs 21%) provoca un patrón de comportamiento similar, con descensos en la actividad específica de amilasa (Simoes-Nunes, 1986).

No obstante, existen estudios que muestran resultados diferentes a los nuestros, en lo que respecta al contenido de amilasa pancreática en respuesta a un alto contenido de grasa en la dieta. Tasai, et al. (1994) observan niveles del orden de 3 a 4 veces superiores en el ARNm y contenido de amilasa en tejido pancreático de ratas diabéticas, alimentadas con dietas altas en grasa. Takaori, et al. (1995) indican un incremento en el nivel de ARNm de amilasa (2.5 veces) en esta misma especie, cuando ingieren un 45% de grasa en la dieta durante 4 semanas, frente a otro grupo alimentado con una dieta libre de grasa.

Debemos apuntar, en relación con todo lo expuesto, que estudios recientes describen que los aumentos en la ingesta calórica y de grasa en la dieta pueden provocar alteraciones pancreáticas, destacando el desarrollo de pancreatitis, como consecuencia de una complicación asociada a desórdenes en el metabolismo lipídico (González, et al., 1990; Caillol, et al., 1997; Chebli, et al., 1999; Cresta, et al., 1997; Bennani-Kabchi, et al., 2000; Holynskyy et al., 2000;

Tchoua, et al., 2000; Rosso, et al., 2001). Dichas alteraciones cursan con manifestaciones ateroscleróticas en un elevado porcentaje de casos (Kapshitar', 1999), pudiendo conllevar, en consecuencia, la aparición de inflamación glandular (Justrabo, et al., 1982; Uchida, et al., 1988; Tanaka, et al., 1994; Freiburghaus, et al., 1995; Yoshinaga, et al., 2000) y necrosis del tejido pancreático, como consecuencia de la isquemia (Yoshinaga, et al., 2000). Estudios histológicos ponen de manifiesto alteraciones significativas en el páncreas exocrino, con la ingesta de este tipo de dietas (Chowdhury, et al., 2000).

Asimismo es conocido que, en el transcurso de estas patologías, se producen modificaciones en el contenido y secreción de enzimas pancreáticas (Dubick, et al., 1988; Corsetti, et al., 1993; Warden, et al., 1993; Brodt-Eppley and Hui, 1994; Chase, et al., 1996; Kimura and Mossner, 1996; López-Candales, et al., 1996; Caillol, et al., 1997; Hess, et al., 1998; Torrens and McWhinney, 1998, Chebli, et al., 1999; Domenech Calvet, et al., 1999; Lankisch, et al., 1999; Frank and Gottlieb, 2000; Steiner and Williams, 2000), con aumento en los niveles séricos de lipasa y de amilasa pancreáticas (Riederer, 1995; Carballo-Alvarez and Domínguez-Muñoz, 1998; Keim, et al., 1998; Spangenberg, 1998; Vissers, et al., 1999). En nuestras condiciones experimentales, no encontramos alteraciones pancreáticas evidentes tras la ingesta de la dieta aterogénica. Sin embargo, el incremento en la actividad enzimática del páncreas, y la presumible presencia de lesiones arterioscleróticas en los vasos pancreáticos, al igual que las detectadas en otras arterias (Aguilera, 1999), nos inducen a pensar en la posibilidad de que, a largo plazo, esta situación pudiera conducir a una alteración inflamatoria del páncreas (pancreatitis aguda o crónica).

### **3.2.-EFECTOS DE LA INGESTA DE LOS DIFERENTES ACEITES SOBRE EL CONTENIDO EN ENZIMAS DEL PÁNCREAS, EN CONEJOS HIPERCOLESTEROLÉMICOS**

Es conocido que, además de la cantidad, la calidad de la grasa dietética también afecta al contenido en enzimas del páncreas, de forma diferencial. Estos cambios de calidad pueden estar asociados tanto a la longitud de cadena como al grado de insaturación de los ácidos grasos mayoritarios en ella. En nuestras condiciones experimentales, el perfil en ácidos grasos de las

dietas control y aterogénica fue muy semejante, en el porcentaje de MUFA, PUFA y SFA (Tabla 9). Esta semejanza nos habla a favor de que los cambios observados en el contenido enzimático los podemos atribuir a la cantidad de grasa total presente en la dieta aterogénica frente a la control, y no a cambios en la calidad, en este caso, el grado de insaturación de los ácidos grasos presentes en mayor porcentaje en las mismas. Estudios realizados en conejos demuestran que la adaptación enzimática del páncreas parece mayor en respuesta a incrementos en los niveles de ácidos grasos de cadena corta, frente a aumentos en los niveles de ácidos grasos de cadena larga presentes en la dieta (Navas, et al., 1993). Esto nos indica que, en esta especie, existe una adaptación diferencial al tipo de grasa, concretamente a modificaciones en la longitud de cadena de los ácidos grasos alimentarios.

En este estudio se observa que, en conejos hipercolesterolémicos, la ingesta de dietas adicionadas con distintos tipos de grasa (girasol, oliva, oliva virgen y pescado) durante 30 días, da lugar a modificaciones en el contenido en enzimas del páncreas. Así, la lipasa sigue incrementando sus niveles en el grupo que toma la dieta rica en girasol, alcanzando valores significativamente superiores respecto a los grupos aterogénico, oliva virgen y pescado. Estos resultados parecen apuntar hacia la influencia del tipo de grasa en la adaptación de esta enzima, concretamente a grasas con un alto contenido en PUFA (n-6).

En la rata, Sabb, et al. (1986) muestran, con dietas moderadas en grasa (40% de las kcal totales ingeridas) un incremento en los niveles de lipasa en páncreas, respecto a dietas bajas en grasa (11%), sólo en el grupo en que la grasa añadida es aceite de cártamo, rico en ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6, y no en los grupos con alto contenido en ácidos grasos saturados (aceite de coco, mantequilla o grasa porcina) o monoinsaturados (aceite de oliva). Otros autores ponen de manifiesto que, en ratas alimentadas con distintos tipos de grasas dietéticas (aceite de cártamo, rico en PUFA n-6, y grasa porcina, con alto contenido en ácidos grasos saturados) y con niveles normales de éstas, la actividad lipásica es máxima con dietas ricas en ácidos grasos saturados; sin embargo, el consumo de dietas con un 17.4% de grasa (expresado como porcentaje en peso), provocan mayores incrementos de lipasa cuando dichas dietas contienen un alto contenido en PUFA (n-6) (Ricketts and Brannon, 1994). Estos resultados nos confirman

que sólo cuando se incrementan los niveles de grasa en la dieta, los PUFA n-6 tienen un efecto sobre la actividad lipásica.

Los mecanismos reguladores de la actividad de lipasa pancreática parecen ser diferentes para el contenido o tipo de grasa de la dieta. La cantidad de grasa ejerce un control de la misma a nivel pre-traducciona (dado que se han puesto de manifiesto cambios paralelos en los niveles de ARNm con incrementos en la ingesta de ácidos grasos saturados, procedentes de grasa porcina, o poliinsaturados, del aceite de girasol). El tipo de grasa, sin embargo, regula esta enzima lipolítica a otros niveles, traducciona o post-traducciona, pues se ha observado que, no existe una correlación entre el contenido en ARNm específico y la actividad de lipasa pancreática en ratas alimentadas con dietas con un contenido moderado en ácidos grasos saturados (174 g/kg dieta), cuando se compara con animales que ingieren cantidades inferiores de estos ácidos grasos (50 g/kg dieta) (Ricketts and Brannon, 1994).

Borel, et al. (1991) indican que, en conejos, el consumo de dietas con un 12% de grasa (aceite de girasol o mantequilla) provoca incrementos en los niveles de lipasa pancreática, no observando diferencias en función de la calidad de la grasa ingerida, una rica en PUFA (n-6) (aceite de girasol) y la otra en SFA (mantequilla).

En nuestras condiciones experimentales, en conejos adaptados a dietas de moderado a alto contenido graso (7.9% en peso, lo que supone aproximadamente un 21% del contenido calórico total) durante 50 días, la adaptación posterior a distintos tipos de grasa dietética y concretamente a aceite de girasol, sí modifica de forma diferencial el contenido de esta enzima lipolítica, incrementándola aún más, fenómeno que no ocurre en animales alimentados con aceites de pescado, oliva y oliva virgen.

En general, en relación con las diferencias encontradas entre los estudios en la misma o en distintas especies, el problema radica en definir lo que se consideran, en las dietas, niveles bajos, moderados o altos de grasa. Nosotros trabajamos con cantidades de grasa de unas dos veces los valores normales para la especie estudiada, que suponen, como hemos dicho, un 7.9% en peso y un 21% aproximadamente de las calorías totales ingeridas, mientras que otros autores



utilizan, para dietas de “contenido moderado”, un 17.4% en peso (alrededor de un 40% de las calorías) en la rata, siendo para esta especie un 4-5% el contenido habitual de los piensos estándar. Esto se traduce en alrededor de 3 veces este contenido, frente al doble utilizado por nosotros en conejos. En la misma especie, Borel, et al. (1991) muestran una adaptación con niveles de grasa cuatro veces superiores al contenido del pienso estándar (12%).

El comportamiento de la lipasa en los animales que ingieren la dieta de girasol está de acuerdo con los resultados obtenidos por Ballesta, et al. (1990) en perros adaptados a dietas con alto contenido en grasa, en los cuales se observa una secreción de lipasa mayor en el grupo que ingiere aceite de girasol.

La colipasa, en los cuatro grupos experimentales enriquecidos con los distintos aceites (oliva, oliva virgen, girasol y pescado) presenta un comportamiento paralelo al de la lipasa, siendo el contenido máximo de nuevo, en el grupo que ingiere la dieta rica en aceite de girasol. Comportamientos similares, pero de menor magnitud para colipasa, son observados por Borel, et al. (1991) también en conejos. Distintos autores han descrito que esta enzima, por su actividad biológica, sigue comportamientos paralelos a los de lipasa (Corringt, et al., 1982), aunque según otros, se producen niveles mayores de la misma en respuesta a cambios en el contenido proteico de la dieta (Saraux, et al., 1982; Ouagued, et al., 1980). Los últimos datos muestran una correlación positiva entre el contenido de colipasa y el de tripsina (Jakobs, et al., 2001).

El patrón de comportamiento de la amilasa es inverso al de la lipasa, en los grupos girasol y oliva, cuyos contenidos son más elevados para lipasa e inferiores para amilasa, semejantes a los del grupo aterogénico. Sin embargo, en los grupos oliva virgen y pescado, esta enzima presenta mayor actividad, correspondiendo a ellos las menores actividades lipolíticas. Este comportamiento alcanza significación estadística cuando expresamos la actividad amilásica en páncreas total y como actividad específica.

Un hecho a destacar es que los niveles de actividad de amilasa en el grupo control, alimentado con un bajo contenido en grasa, son semejantes a los descritos para los grupos oliva

y girasol, éstos últimos con altos niveles de actividad lipásica. Este hecho puede atribuirse a que, para dietas con contenido graso bajo (dentro de los niveles recomendados para esta especie), no parece que ocurra un comportamiento inverso de lipasa y de amilasa, como ocurre cuando se administran dietas con contenido elevado en grasa dietética.

La relación lipasa/amilasa observada en nuestro estudio corrobora lo descrito para ambas actividades enzimáticas, esto es, se encuentra incrementada de manera paralela a como lo hace la lipasa e inversamente a los niveles de actividad amilásica, apoyando lo descrito acerca de que ambas enzimas presentan patrones de comportamiento inversos, en el contexto de dietas altas en grasa (Brannon, 1990; Tsai, et al., 1994).

En cuanto a las proteasas, la quimiotripsina parece responder más a la cantidad de grasa, que a la calidad, presentando un patrón semejante al descrito para lipasa. La tripsina sigue un comportamiento diferente, no afectándose por la cantidad ni por la calidad. Estos es lógico, ya que distintos autores (Flores, et al., 1988; Boehm, et al., 1995; Yago, et al., 1997; Levey, et al., 1999; Graf, et al., 2000; Hara, et al., 2000) están de acuerdo con el hecho de que la tripsina responde casi exclusivamente a cambios en los niveles de proteína de la dieta. No obstante, estudios recientes en cerdos muestran incrementos del pool de tripsina pancreática tras la ingesta de aceite de coco frente a la de aceite de oliva (Jakobs, et al., 2001), lo que sugiere una influencia de la calidad de la grasa ingerida sobre la actividad de esta enzima.

De lo descrito en general, acerca de los resultados obtenidos, podemos deducir que: en los animales ateroscleróticos, el páncreas sólo parece sufrir un proceso de adaptación enzimática a los niveles de sus diferentes sustratos presentes en la dieta, de modo similar a lo descrito en rata por Brannon (1990), sin afectar a otras funciones de la glándula.

Globalmente, los cambios en la actividad enzimática glandular, se pueden atribuir a las modificaciones cuantitativas en la grasa de la dieta. Los cambios en la calidad de la grasa creemos que afectarían, principalmente a la secreción glandular y, por tanto, a la secreción del componente enzimático, como consecuencia de modificaciones en las membranas celulares.

Estos cambios en la secreción se producen por dos motivos, ya que los ácidos grasos mayoritarios en la dieta:

(a) modifican directamente la respuesta secretora a secretagogos

(b) estimulan determinados péptidos gastrointestinales (acción indirecta sobre dicha secreción), como CCK, potente estimulador de la secreción de enzimas pancreáticas. En este sentido, es conocido el papel del ácido oleico (ácido graso monoinsaturado mayoritario en el aceite de oliva) por su gran capacidad estimuladora de la liberación de CCK.

Distintos autores (O'Doherty and Stark, 1982; Havinga, et al., 1984; Freedman, et al., 1994; Schmidt, et al., 2000; Schmidt, et al., 2001) han puesto de manifiesto modificaciones en la secreción, como consecuencia de cambios estructurales en la membrana de la célula acinar.

Creemos que nuestros resultados muestran que, en la adaptación enzimática a los cambios en el contenido graso de la dieta, tienen un papel tanto la cantidad de grasa como el tiempo de adaptación, interactuando ambos factores, al menos en la especie estudiada. En lo que concierne al primer aspecto, el porcentaje en grasa que ingirieron los animales (7.9% en peso, 21% kcal totales, para la dieta aterogénica) fue suficiente para observar cambios en el patrón enzimático, como hemos descrito. Respecto al tiempo de ingesta de dichas dietas, hemos demostrado cómo tras 50 días ya se presentan cambios adaptativos de la glándula pancreática al contenido graso de la dieta. Cabe destacar la escasa bibliografía existente acerca del patrón de comportamiento del conejo en la adaptación del páncreas exocrino a la grasa de la dieta.

En otras especies como la rata se ha observado adaptación con cantidades similares a las nuestras (25% de las kcal), aunque esta especie se adapta a cantidades inferiores de grasa en la dieta (10%), tras un periodo de ingesta de 10 días (Wicker, et al., 1988). Los estudios en rata indican que a las 24 horas de modificar la dieta ya se pueden observar cambios en el patrón de enzimas pancreáticas, y que éstos se mantienen durante 5-7 días ((Ben Abdeljlil, et al., 1963; Puigserver, et al., 1985; Wicker, et al., 1988). En cerdo, se han mostrado cambios adaptativos con un porcentaje calórico de grasa idéntico al empleado por nosotros (21%) a los 12 días de ingesta de la dieta (Simoes-Nunes, 1985). Otros autores ponen de manifiesto en esta especie que

son necesarios incrementos en el contenido graso de la dieta de hasta 6 veces, para observar adaptación tras siete días de ingesta (Corring, et al., 1987). Flores, et al. (1988) ponen de manifiesto una adaptación en cerdo, tras un periodo de ingesta de 30 días con dietas que contienen un 70% de las kcal como grasa. Estudios en pollos muestran un patrón de adaptación pancreática tras 18 días de ingesta de una dieta con un 15% en grasa (Dror, et al., 1976).

#### **4.-MODIFICACIONES EN LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LAS MEMBRANAS PANCREÁTICAS**

Muchos de los acontecimientos metabólicos que ocurren en la célula, tales como biosíntesis de fosfolípidos y desaturación de ácidos grasos, pueden ser atenuados por factores exógenos como la dieta, constituyendo la grasa alimentaria un determinante importante de los componentes de las membranas celulares (Clandinin, et al., 1991).

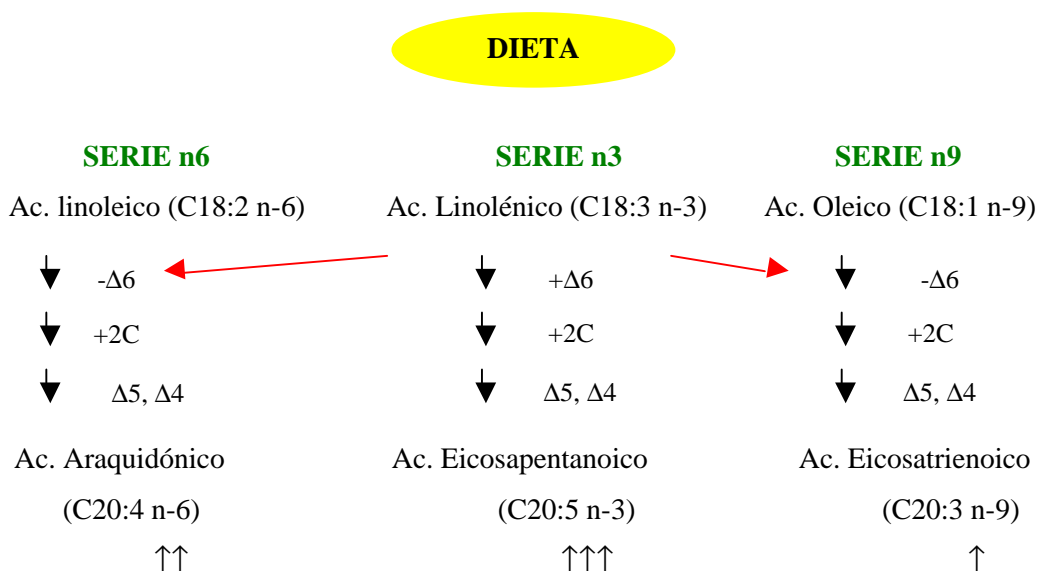
La fluidez de las membranas está influenciada por la estructura lipídica y por la proporción de ácidos grasos saturados e insaturados, ramificados o cíclicos, que constituyen los fosfolípidos individuales (Sajbidor, 1997). Se sabe que una relación apropiada de SFA/UFA en general, y en particular de SFA/MUFA, contribuye a dicha fluidez, y que las alteraciones en este cociente están relacionadas con diferentes estados patológicos, entre otros, enfermedad cardiovascular, obesidad, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión, enfermedades neurológicas, desórdenes inmunes y cáncer (Ntambi, 1999).

Los ácidos grasos ingeridos a través de la dieta son incorporados en los lípidos de diversos tejidos. No obstante, no está claro si todos los tejidos presentan el mismo nivel de incorporación (Berlin, et al., 1998). Así, el plasma refleja el metabolismo lipídico a corto plazo, como se ha demostrado en estudios con diferentes especies, como el cerdo (Seiquer, et al., 1994) o el conejo (Aguilera, 1999). Lo mismo se observa en tejidos como hígado de rata (Girón, et al., 1996; Quiles, et al., 1999) o de conejo (Aguilera, et al., 1999; Ochoa, 1998). El eritrocito parece requerir un mayor periodo de tiempo para adaptar sus membranas a cambios en la ingesta de ácidos grasos, como se ha observado en cerdo (Seiquer, et al., 1996) o en humanos (Goulet, et al., 1999). Por último, en otros tejidos como el cerebro de distintas especies

estudiadas, no se observa adaptación a la grasa de la dieta en periodos moderadamente cortos de tiempo (Connor, et al., 1990; Murillo, 1998; Abedin, et al., 1999; Ramachandran, et al., 2000).

La composición de la membrana refleja, de una parte, el ácido graso presente en mayor contenido en la dieta, y de otra, los mecanismos de inhibición y síntesis de otros compuestos a partir de éste. En este sentido, los ácidos grasos de las distintas series (n9, n6 y n3) generalmente compiten por las enzimas correspondientes, desaturasas y elongasas, comunes para las tres series, llevándose a cabo la biosíntesis de nuevos ácidos grasos por reacciones de desaturación y elongación, siendo la  $\Delta 6$ -desaturasa la que limita las vías metabólicas de los diferentes ácidos grasos, y el ácido linoleico (C18:2 n-6) el que presenta mayor afinidad por la misma. La vía predominante será función del ácido graso que se presente en mayor contenido en la dieta.

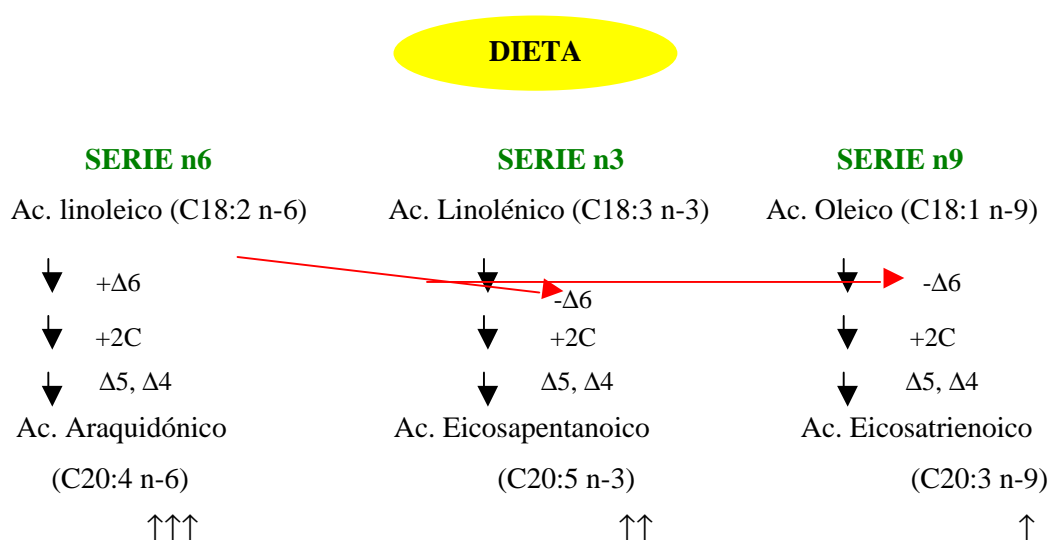
### INTERACCIÓN ENTRE SERIES DE ÁCIDOS GRASOS



Esta interacción ocurre cuando los tres ácidos grasos se encuentran en la misma proporción relativa en la dieta. En esta situación, la  $\Delta 6$  desaturasa presenta mayor afinidad por

el ácido graso de mayor grado de insaturación. Como consecuencia, se produce un incremento relativo de los ácidos grasos poliinsaturados derivados de la serie n3, respecto a las series n6 y n9 (Matáix and Martínez de Victoria, 1988).

Cuando en la dieta predomina la proporción relativa de ácido linoleico, respecto de la de oleico y linolénico, lo que ocurre es lo siguiente:



#### **4.1.-INFLUENCIA DE LA CANTIDAD DE GRASA DE LA DIETA SOBRE LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LAS MEMBRANAS PANCREÁTICAS**

Según el método de separación y aislamiento de elementos de membrana del tejido pancreático, las fracciones que vamos a describir corresponden a las obtenidas por Fleischer, et al. (1979), tal y como se indica en el capítulo correspondiente a Material y Métodos. Así, y según los autores de la metodología, en una de dichas fracciones se encuentran tanto las membranas plasmáticas como las de mitocondrias y en la otra, las correspondientes a microsomas.

En la primera fracción (membranas plasmáticas y mitocondriales) los animales del grupo control presentan un perfil de ácidos grasos que se recoge en las Tablas correspondientes

(ver antes). El consumo de la dieta aterogénica (adicionada con grasa saturada y colesterol) produjo, tras 50 días, las siguientes modificaciones, respecto de los animales del grupo control: descenso significativo del contenido en SFA, incremento igualmente significativo de los MUFA, mientras que no hay modificaciones en PUFA ni en UI.

Los descensos en ácido palmítico (C16:0) parecen ser los responsables de la disminución en ácidos grasos saturados totales de estas membranas, mientras que el oleico (C18:1 n-9) explica los aumentos en ácidos grasos monoinsaturados. Si estudiamos los perfiles en ácidos grasos de las dietas control y aterogénica, observamos que las últimas contienen cantidades superiores de ácido esteárico (C18:0) que, *in vivo*, por actuación de la  $\Delta$ 9-desaturasa, se transforma en oleico. Además, la dieta hipercolesterolémica presenta mayores porcentajes en oleico. Ambos hechos explican el mayor contenido en MUFA de las membranas pancreáticas en el grupo que ingiere este tipo de dieta.

Esta circunstancia se ha observado en otros tejidos como hígado, en las lesiones ateroscleróticas de la aorta abdominal, pero no torácica y también en fracciones microsomales y mitocondriales hepáticas (Aguilera, 1999). En los mismos tejidos, este autor encuentra, como nosotros, menor contenido en SFA y concretamente en C16:0. Dado que la dieta aterogénica tiene un contenido más bajo en ácido linoleico (C18:2 n-6) que la control, y conociendo que los niveles más altos de este ácido graso afectan a la actividad  $\Delta$ -9 desaturasa inhibiéndola, este hecho explicaría tanto los aumentos observados en ácido oleico, como los descensos acusados en ácido palmítico, del grupo aterogénico.

Estos resultados son apoyados por distintos autores, que muestran cómo tras ingestas elevadas de colesterol, la membrana tiende a contrarrestar la rigidez ocasionada por el mismo incrementando su contenido en ácidos grasos insaturados (C18:1 n-9) a partir de los saturados procedentes de la dieta (C16:0 y C18:0), por activación de la  $\Delta$ -9-desaturasa (Leikin and Brenner, 1987; Garg and Sabine, 1988; García Cevallos and Farkas, 1989; Hariharan and Raina, 1996; Sajbidor, 1997).

Podemos indicar que, a pesar del menor contenido en ácido linoleico de la dieta aterogénica, los niveles de este ácido graso en las membranas plasmáticas y mitocondriales del grupo que ingiere dicha dieta son ligeramente superiores (aunque no significativos) a los encontrados en el grupo control (Tabla 26). Esto se podría atribuir al mayor contenido en colesterol de esa dieta, el cual, como han descrito Muriana, et al. (1992), inhibe la elongación e insaturación del ácido linoleico, acumulándose en la membrana.

Cuando analizamos el perfil de ácidos grasos de los microsomas pancreáticos en los grupos control y aterogénico, encontramos que el contenido en SFA es prácticamente el mismo, al igual que el de MUFA totales. En el mismo sentido, los PUFA de membrana presentan niveles semejantes en ambos grupos. Si nos centramos en ácidos grasos individuales, sólo aparecen diferencias significativas en el contenido en PUFA $>18C$  (n-3), concretamente en EPA y DHA, con menores niveles en los microsomas del grupo aterogénico. Este comportamiento es diferente al encontrado en la otra fracción de membranas pancreáticas estudiada por nosotros, lo que parece indicar una menor afectación de dichas membranas microsomales frente a cambios en el perfil de ácidos grasos de la dieta. También difieren estos resultados de los observados por Aguilera (1999), que encuentra cambios paralelos en mitocondrias y microsomas hepáticos, aunque este autor no incluye membranas plasmáticas.

Aunque no hay información sobre un comportamiento diferente entre ambos tipos de membranas, que justifique una mayor o menor adaptación a la composición en ácidos grasos de la dieta, existen estudios que ponen de manifiesto una respuesta distinta a otros factores extrínsecos de las membranas microsomales respecto de las mitocondriales, en función del tejido y especie considerados. Así, por ejemplo, en la especie bovina, la incubación de ambos orgánulos subcelulares en presencia de ascorbato- $Fe^{2+}$  provoca un grado de peroxidación lipídica significativamente distinto en mitocondria de hígado, corazón y pulmón, que el encontrado en microsomas de pulmón. Ahora bien, el perfil de ácidos grasos de dichas fracciones subcelulares no parece ser el responsable de su diferente susceptibilidad a la degradación, por parte de los radicales libres (Rosa and Catala, 1998). Por ello, estos autores sugieren que sean otros los factores determinantes de la protección frente a la peroxidación lipídica en microsomas y mitocondrias de dichos tejidos, en esta especie. A esta misma



conclusión llegan Gutierrez, et al. (2000) en un estudio similar en hígado y corazón de otras especies como la rata y la paloma. Piergiacomi, et al. (2001) han demostrado en rata un comportamiento diferente en las membranas microsomaes respecto a las mitocondriales, en hígado, riñón, corazón, cerebro y pulmón, en lo que respecta a la composición en ácidos grasos de las mismas y al grado de peroxidación lipídica, cuando se les administra vitamina A.

Teóricamente, aunque las membranas microsomaes del grupo aterogénico deben tener más colesterol, no parece haber, de acuerdo con nuestros resultados, compensación para mantener la fluidez de dichas membranas. Por ello, pensamos que sean más rígidas.

En nuestras condiciones experimentales, las membranas pancreáticas del grupo aterogénico no reflejan, al compararlas con las del grupo control, una adaptación al perfil de ácidos grasos presentes en la dieta. Esta ausencia de reflejo del tipo de la grasa ingerida en las membranas podría deberse *a priori*, a dos factores adicionales, que concurren: el primero sería el contenido en colesterol de la dieta y el segundo, la cantidad total de grasa que contiene. Respecto al colesterol, ya hemos mencionado que:

- Un incremento del mismo aumenta la rigidez de la membrana y
- Ésta tiende a compensar dicho fenómeno con mayor contenido en ácidos grasos insaturados.

El resultado final es que, tanto en unas membranas como en otras (plasmático-mitocondriales y microsomaes), el contenido superior en colesterol determina una mayor rigidez de las mismas, en el grupo aterogénico frente al control.

Distintos autores han puesto de manifiesto que el incremento en la rigidez de membrana puede afectar a la funcionalidad de ésta (Hopwood and Ross, 1997; Muramatsu, et al., 1999; Subczynski and Wisniewska, et al., 2000). Concretamente, en células secretoras se ha podido observar una modificación en las señales de transducción (Schmidt, et al., 2000; Schmidt, et al., 2001; Chamberlain, et al., 2001). Estos cambios son debidos a que se afectan los microdominios de membrana ricos en colesterol y glicoesfingolípidos, los cuales intervienen como soporte para

proteínas específicas de membrana y están implicados en el transporte y señales de transducción, con consecuencias importantes sobre el flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  (Babiychuk and Draeger, 2000). Los movimientos de  $\text{Ca}^{2+}$  intra y extracelular, así como su almacenamiento son regulados por el estado de fluidez de las membranas celulares (Simkiss, 1998).

Así, en en granulocitos de pacientes hipercolesterolémicos con niveles elevados de LDL en plasma, se afectan las señales celulares en las que intervienen el  $\text{Ca}^{2+}$  y el  $\text{IP}_3$ , al modificarse la fluidez de las membranas (Paragh, et al., 1999).

El colesterol puede modular la función de un receptor de membrana por estos cambios en la fluidez, tal y como ha sido demostrado para los receptores de CCK en cerebro (Gimpl, et al., 1997), regulando la interacción de estos receptores con proteínas G, como se ha puesto de manifiesto en rata (Rinken, et al., 1998). Estudios previos indican que la incorporación de colesterol en la membrana disminuye la eficacia de acoplamiento entre la adenilato-ciclasa (AC) y el complejo receptor-VIP, así como otros sistemas de receptores, en células epiteliales de próstata en la rata, como consecuencia del incremento en la rigidez de la misma (Carmena, et al., 1991).

Por otro lado, Begin, et al. (1990) han demostrado que el empaquetamiento de las enzimas en los gránulos de zimógeno también puede modificarse, al hacerlo el tipo de grasa presente en la dieta; de forma paralela, estos cambios cualitativos de la grasa de la dieta afectan a la actividad secretora del páncreas exocrino, obteniendo mayores tasas de secreción con dietas altas en SFA y menores con dietas que poseen contenidos superiores de PUFA (Beaudoin, et al. (1989). Estos cambios secretores también han sido descritos por nuestro grupo en perros (Ballesta, et al., 1990).

En consecuencia, estas modificaciones en la rigidez de membrana, junto con los cambios en el perfil de ácidos grasos observados en membranas plasmáticas, podrían afectar al nivel de secreción de la glándula. Por tanto, aunque el contenido en enzimas del páncreas presenta un patrón típico de la adaptación de esta glándula a la cantidad de grasa de la dieta, no

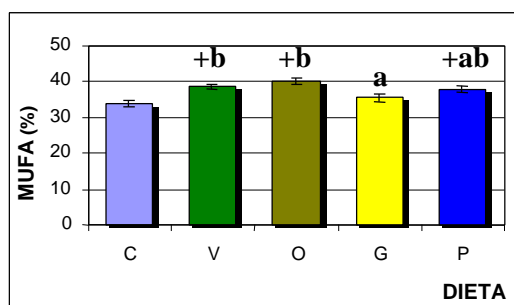
podemos descartar que existan modificaciones en el nivel de secreción de estas enzimas en nuestros animales aterogénicos.

No hay nada descrito acerca de la influencia de la grasa de la dieta sobre la composición en ácidos grasos y rigidez de las membranas, y de la incidencia de estos cambios sobre la síntesis de enzimas por la célula acinar pancreática. Se sabe que los mediadores de la adaptación de la lipasa pancreática a dietas elevadas en grasa son la secretina y los cuerpos cetónicos (Bazin, et al., 1978). Esto nos hace pensar que, los cambios que ocurren en las membranas tras la manipulación de la dieta, cuando incrementa el nivel y tipo de grasa y la cantidad de colesterol, al menos en nuestro caso, no parecen tener ninguna influencia sobre la síntesis enzimática.

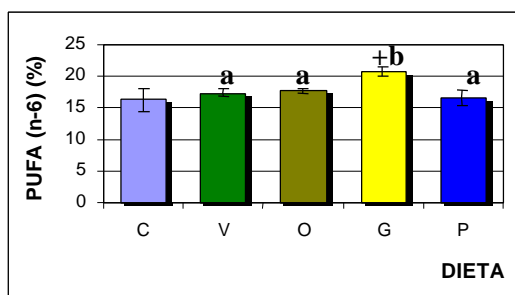
Por último, debemos comentar que el mayor contenido en enzimas del páncreas de los animales aterogénicos, producto de la adaptación a dietas ricas en grasa, podría, como ya hemos mencionado, ser un factor de riesgo en el desarrollo de pancreatitis, aunque deberíamos tener en cuenta los niveles de secreción de la glándula para poder determinar el riesgo real de aparición de esta inflamación glandular.

#### **4.2.-INFLUENCIA DEL TIPO DE GRASA DE LA DIETA SOBRE LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LAS MEMBRANAS PANCREÁTICAS**

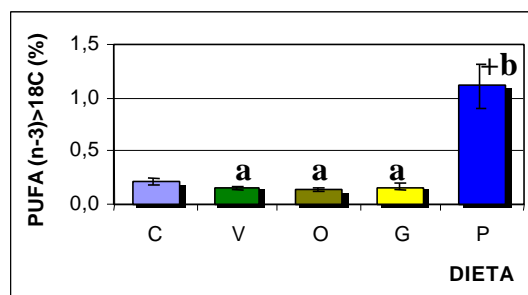
El perfil de ácidos grasos de las membranas plasmáticas y mitocondriales en los distintos grupos experimentales alimentados con los diferentes tipos de grasa dietética (aceites de oliva virgen, oliva, girasol y pescado), al compararlos con el de los animales que ingieren la dieta aterogénica, reflejan la composición en ácidos grasos de los citados aceites que forman parte de sus dietas. Así, los MUFA están en mayor proporción en los grupos V y O, los PUFA (n-6) en el grupo G y los PUFA (n-3)>18C en el grupo P (Tablas 27, 29 y 30). Este cambio en el perfil de ácidos grasos, como consecuencia de la ingesta de distintos tipos de aceites, es especialmente marcado si lo comparamos con las membranas de los animales del grupo control (Figuras 84, 85 y 86).



**Figura 84:** Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados totales (MUFA) de los diferentes grupos experimentales: control (C), oliva virgen (V), oliva (O), girasol (G) y pescado (P). Los valores expresan la media  $\pm$ EEM. (+) vs C; letras distintas indican diferencias significativas entre los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 85:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 (PUFA n-6) de los diferentes grupos experimentales: control (C), oliva virgen (V), oliva (O), girasol (G) y pescado (P). Los valores expresan la media  $\pm$ EEM. (+) grupos V, O, G y P vs C; letras distintas indican diferencias significativas para los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .



**Figura 86:** Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 mayores de 18 átomos de C ((PUFA n-3) > 18C) de los diferentes grupos experimentales: control (C), oliva virgen (V), oliva (O), girasol (G) y pescado (P). Los valores expresan la media  $\pm$ EEM. (+) grupos V, O, G y P vs C; letras distintas indican diferencias significativas para los grupos V, O, G y P.  $p < 0.05$ .

El incremento indicado en MUFA en los grupos oliva y oliva virgen, viene determinado, como se muestra en la Tabla, por el aumento en el contenido de ácido oleico. El ácido linoleico es el responsable del aumento en los PUFA (n-6) y los ácidos grasos EPA y

DHA los que ocasionan un mayor porcentaje de PUFA (n-3)>18C, en los grupos G y P, respectivamente.

Esta tendencia descrita, aunque más atenuada, se observa también al analizar las membranas microsomales pancreáticas (Tablas 35, 37 y 38).

Creemos que estos resultados muestran que, a pesar del menor tiempo de adaptación (30 vs 50 días), y de la adaptación previa a otro tipo y cantidad de grasa de la dieta (aterogénica), debido a nuestro diseño experimental, el páncreas exocrino parece adaptarse más que otros tejidos, como corazón (Moussa, et al., 1996; Ochoa, 1998), cerebro (Murillo, 1998; Ramachandran, et al., 2000) o músculo (Quiles, et al., 1999) al tipo de ácidos grasos presentes en la dieta.

Este patrón de comportamiento diferente de los distintos tejidos ha sido puesto de manifiesto recientemente por Soriguer, et al. (2000) en rata. Los autores han demostrado que existe gran variabilidad en la incorporación de ácidos grasos procedentes de la dieta en los fosfolípidos de membranas celulares de páncreas, tejido adiposo, músculo o timo, aunque en todos ellos se observa un reflejo de la composición de la misma. Dicha variabilidad se observa principalmente para los PUFA (n-6) y más aún para C20:4 (n-6).

Estas dietas presentan, como se ha dicho, un porcentaje de grasa moderado (4.7% en peso), pero no contienen colesterol, a excepción de la de pescado, ya que el aceite utilizado sí lleva pequeñas cantidades de colesterol. De hecho, el contenido en colesterol del páncreas, aunque es significativamente menor en todos los grupos experimentales respecto al aterogénico, en el grupo de pescado se presentan niveles ligeramente superiores (ver antes).

En los animales alimentados con la dieta aterogénica, las membranas plasmáticas y mitocondriales no reflejaban la composición de los ácidos grasos de la dieta. Este comportamiento lo atribuimos a dos factores: la cantidad de grasa y colesterol de la dieta y el contenido en colesterol de las membranas. Por otro lado, la comparación entre el grupo aterogénico y los diferentes grupos alimentados con distintas fuentes grasas, muestran una

adaptación de los últimos al perfil de ácidos grasos presente en cada uno de los aceites utilizados. En este caso, la única variación entre ambos es el contenido de colesterol en la dieta y en la glándula. Al comparar estos últimos con el grupo control, la diferencia es exclusivamente debida a los niveles de grasa. Por tanto, creemos que, en el grupo aterogénico, este distinto comportamiento en la composición en ácidos grasos de las membranas, se puede atribuir al colesterol dietético, que se traduce en un incremento de colesterol pancreático.

La regulación de la fluidez de membrana parece ser para la célula un mecanismo prioritario sobre la adaptación a factores externos como la dieta, aunque ambos aspectos están íntimamente relacionados. Así, esta modulación viene determinada por las relaciones C/FL y SFA/UFA; ambas relaciones dependen de la regulación de la biosíntesis de lípidos de membrana, en particular de colesterol y oleato. Dicha síntesis está sujeta a un mecanismo feedback de control, a nivel transcripcional (Thewke, et al., 2000).

# CONCLUSIONES





### **CONCLUSIÓN PRIMERA**

En conejos, y en nuestras condiciones, la aterosclerosis experimental inducida por la dieta no afecta, a diferencia de lo que ocurre en hígado, al peso del páncreas ni a su contenido en proteína, lo que indica ausencia de hipertrofia e hiperplasia de la glándula. Sin embargo, tras la manipulación de la dieta incrementa de forma marcada el contenido en colesterol. Esto apoya la idea de que este modelo experimental es adecuado para los objetivos planteados en este estudio.

### **CONCLUSIÓN SEGUNDA**

La inducción de aterosclerosis en nuestro modelo experimental provoca en la glándula pancreática una adaptación a los niveles de grasa dietéticos. Esta adaptación afecta a las actividades de lipasa, colipasa, quimiotripsina y amilasa. En esta especie encontramos una adaptación de la quimiotripsina a niveles moderados de grasa, frente a otras especies en las que sólo ocurre con niveles dietéticos elevados de la misma.

Nuestros resultados indican que, en el conejo, la adaptación a elevaciones en la cantidad de grasa de la dieta dependen, no sólo de los valores absolutos de la misma presentes en ella, sino también del tiempo de adaptación. La presencia de colesterol en la dieta no afecta al patrón de adaptación en enzimas pancreáticas a la cantidad de grasa.

### **CONCLUSIÓN TERCERA**

La actividad enzimática del páncreas exocrino se adapta de forma diferencial a la calidad de la grasa de la dieta. Los patrones adaptativos son diferentes en los grupos que ingieren dietas ricas en aceite de girasol y oliva frente a las que ingieren aceite de oliva virgen y pescado. Los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 (PUFA n-6) dietéticos son los que inducen un mayor contenido de enzimas pancreáticas.

#### **CONCLUSIÓN CUARTA**

En general, las membranas plasmáticas, mitocondriales y microsomales del páncreas se asemejan a las de otros órganos como hígado, ya que su composición refleja, en gran medida, el ácido graso mayoritario presente en la dieta. No obstante, la presencia de colesterol en esta última, parece interferir con el proceso de adaptación de dichas membranas, probablemente debido a que los mecanismos que intentan mantener la fluidez de membrana tendrían más importancia fisiológica que los procesos de adaptación.

#### **CONCLUSIÓN GENERAL**

Una visión global de los resultados obtenidos en este trabajo nos muestra que, los mecanismos de adaptación del páncreas a las dietas con un alto contenido en grasa se reflejan principalmente en el contenido en enzimas, pero no en la composición de las membranas de la glándula. Sin embargo, la calidad de la grasa dietética sí afecta a la composición de las membranas pancreáticas y, en consecuencia, a las funciones de las diferentes moléculas presentes en ellas. Si tenemos en cuenta que la calidad de la grasa también afecta a los niveles de los distintos péptidos gastrointestinales implicados en la regulación de la actividad secretora del páncreas, esto nos lleva a pensar que la calidad de la grasa afecta preferencialmente a la secreción de enzimas pancreáticas.

Debemos indicar, por último, la necesidad de posteriores investigaciones que aborden ambos parámetros, síntesis y secreción, individualmente, para establecer de forma completa, los mecanismos de adaptación de la glándula pancreática y la posible relación con procesos inflamatorios glandulares descritos en situaciones de altas ingestas dietéticas de energía y grasa.

# BIBLIOGRAFÍA



- Abedin L, Lien E.L, Vingrys A.J, Sinclair A.J. The effects of dietary alpha-linoleic acid compared with docosahexaenoic acid on brain, retina, liver and heart in the guinea pig. *Lipids* 1999; 34 (5): 475-482.
- Abel S, Gelderblom WC, Smuts CM, Kruger M. Thresholds and kinetics of fatty acid replacement in different cellular compartments in rat liver as a function of dietary n-6/n-3 fatty acid content. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997; 56 (1): 29-39.
- Achtani C, Awtade A, Vasisht S, Srivastava LM. Effect of MaxEPA (fish oil) on lipoproteins and its receptors in hypercholesterolemic rabbits. *Biochem Mol Biol Int* 1995; 37 (3): 489-498.
- Actis Dato SM, Brenner RR. Comparative effects of docosa-4,7,10,13,16-pentaenoic acid and docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoic acid on the desaturation of linoleic acid and alpha-linolenic acid. *Lipids* 1970; 5 (12): 1013-1015.
- Adelson JW and Rothman SS. Chymodenin a duodenal peptide: specific stimulation of chymotrypsinogen secretion. *Am J Physiol* 1975; 229: 1680-1686.
- Adelson JW and Rothman SS. Selective pancreatic enzyme secretion due to a new peptide called chymodenin. *Science* 1974; 183: 1087-1089.
- Ademoglu E, Gokkusu C, Palanduz S. Vitamin E and ATPases: protection of ATPase activities by vitamin E supplementation in various tissues of hypercholesterolemic rats. *Int J Vitam Nutr Res* 2000; 70 (1): 3-7.
- Adrian TE, Ferri GL, Bacarese-Hamilton AJ, Fuessl HS, Polak JM, Bloom SR. Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology* 1985; 89 (5): 1070-1077.
- Aguilera MC. Influencia de la ingesta de aceites de oliva, girasol y pescado sobre el desarrollo de aterosclerosis en conejos. Tesis Doctoral 1999.
- Ahren B, Pettersson M, Uvnas-Moberg K, Gutniak M, Efendic S. Effects of cholecystokinin (CCK)-8, CCK-33, and gastric inhibitory polypeptide (GIP) on basal and meal-stimulated pancreatic hormone secretion in man. *Diabetes Res Clin Pract* 1991; 13 (3): 153-161.
- Akao S, Bockman DE, Lechene de la Porte P, Sarles H. Three-dimensional pattern of ductuloacinar associations in normal and pathological human pancreas. *Gastroenterology* 1986; 90 (3): 661-8.
- Akiyama T, Tachibana I, Shirohara H, Watanabe N, Otsuki M. High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. *Diabetes Res Clin Pract* 1996; 31(1-3):27-35.
- Alcon S, Rosado JA, García LJ, Pariente JA, Salido GM, Pozo MJ. Secretin potentiates guinea pig pancreatic response to cholecystokinin by a cholinergic mechanism. *Can J Physiol Pharmacol* 1996; 74 (12): 1342-1350.
- Aleman-Gomez JA, Colwell NS, Sasser T, Kumar VB. Molecular cloning and characterization of rabbit pancreatic triglyceride lipase. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 188 (3): 964-971.
- Ali AE, Rutishauser SCB, Case RM. Pancreatic and biliary secretion in the anesthetized Syrian golden hamster in response to secretin, CCK-8, bombesin and carbachol. *Pancreas* 1990; 5: 314-322.
- Allen JM, Sarson DL, Adrian TE, Wood C, Thompson GR, Bloom SR. Effect of partial ileal bypass on the gut hormone responses to food in man. *Digestion* 1983; 28 (3): 191-196.

- Allen EE, Facciotti D, Bartlett DH. Monounsaturated but not polyunsaturated fatty acids are required for growth of the deep-sea bacterium *Photobacterium profundum* SS9 at high pressure and low temperature. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65 (4): 1710-1720.
- Aloia RC. The role of membrane fatty acids in mammalian hibernation. *Fed Proc* 1980; 39 (12): 2974-2979.
- Alpers DH, Bass NM, Engle MJ, DeSchryver-Keckskemeti K. Intestinal fatty acid binding protein may favor differential apical fatty acid binding in the intestine. *BBA-Molecular and Cell Biology of Lipids* 2000; 1483 (3): 352-362.
- Amigo L, Mendoza H, Zanlungo S, Miquel JF, Rigotti, A., González, S., Nervi, F. Enrichment of canalicular membrane with cholesterol and sphingomyelin prevents bile salt-induced hepatic damage. *J Lipid Res* 1999; 40: 533-542.
- Ammouche A, Youyou Y, Durand G, Bourre JM. Effects of dietary fats on nucleoside triphosphatase activity and nuclear membrane fatty acid composition of rats during development. *Ann Nutr Metab* 1994; 38 (3): 132-140.
- Angulo-Guerrero O, Oliart RR. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on rat brain plasma membrane fatty acid composition. *Arch Latinoam Nutr* 1998; 48 (4): 287-292.
- Aponte GW, Fink AS, Meyer JH, Tatemoto K, Taylor IL. Regional distribution and release of peptide YY with fatty acids of different chain length. *Am J Physiol* 1985; 249 (6 Pt 1): G745-G750.
- Appel MJ, Meijers M, Van Garderen-Hoetmer A, Lamers CBHW, Rovati LC, Sprij-Mooij D, Jansen JBMJ, Woutersen RA. Role of cholecystokinin in dietary fat-promoted azaserine-induced pancreatic carcinogenesis in rats. *Br J Cancer* 1992; 66: 46-50.
- Arad Y, Spadaro LA, Roth M, Scordo J, Goodman K, Sherman S, Lerner G, Newstein D, Guerci AD. Serum concentration of calcium, 1,25 vitamin D and parathyroid hormone are not correlated with coronary calcifications. An electron beam computed tomography study. *Coron Artery Dis* 1998; 9 (8): 513-518.
- Armstrong VW, Cremer P, Eberle E, Manke A, Schulze F, Wieland H, Kreuzer H, Seidel D. The association between serum Lp(a) concentrations and angiographically assessed coronary atherosclerosis. Dependence on serum LDL levels. *Atherosclerosis* 1986; 62 (3): 249-257.
- Arnold RS, Newton AC. Inhibition of the insulin receptor tyrosine kinase by sphingosine. *Biochemistry* 1991; 30 (31): 7747-54.
- Asakura L, Lottenberg AM, Neves MQ, Nunes VS, Rocha JC, Passarelli M, Nakandakare ER, Quintao EC. Dietary medium-chain triacylglycerol prevents the postprandial rise of plasma triacylglycerols but induces hypercholesterolemia in primary hypertriglyceridemic subjects. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (3): 701-705.
- Aughsteen AA, Cope GH. Changes in the size and number of secretion granules in the rat exocrine pancreas induced by feeding or stimulation in vitro. A morphometric study. *Cell Tissue Res* 1987; 249 (2): 427-436.
- Awad TB, Chattopadhyay JP. Effect of dietary fats on the lipid composition and enzyme activities of rat cardiac sarcolemma. *J Nutr* 1983; 113 (9): 1878-1883.
- Awad AB, Chattopadhyay JP, Danahy ME. Effect of dietary fat composition on rat colon plasma membranes and fecal lipids. *J Nutr* 1989; 119 (10): 1376-1382.
- Awad AB, Young AL, Fink CS. The effect of unsaturated fatty acids on membrane composition and signal transduction in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Lett* 1996; 108 (1): 25-33.

- Babiychuk EB, Draeger A. Annexins in cell membrane dynamics. Ca(2+)-regulated association of lipid microdomains. *J Cell Biol* 2000; 150 (5): 1113-1124.
- Badawi AF, El-Soheby A, Stephen LL, Ghoshal AK, Archer MC. The effect of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on the expression of cyclooxygenase 1 and 2 and levels of p21-r-a-s in rat mammary glands. *Carcinogenesis* 1998; 19 (5): 905-910.
- Badimon JJ, Badimon L, Fuster V. Regression of atherosclerotic lesions by high density lipoprotein plasma fraction in the cholesterol-fed rabbit. *J Clin Invest* 1990; 85(4):1234-41.
- Badimon JJ, Badimon L, Turitto VT, Fuster V. Platelet deposition at high shear rates is enhanced by high plasma cholesterol levels. In vivo study in the rabbit model. *Arterioscler Thromb* 1991; 11 (2): 395-402.
- Bailey JM, Makheja AN, Lee R, Simon TH. Systemic activation of 15-lipoxygenase in heart, lung, and vascular tissues by hypercholesterolemia: relationship to lipoprotein oxidation and atherogenesis. *Atherosclerosis* 1995; 113 (2): 247-258.
- Baker PW, Gibbons GF. Effect of dietary fish oil on the sensitivity of hepatic lipid metabolism to regulation by insulin. *J Lipid Res* 2000; 41: 719-726.
- Balasubramaniam S, Simons LA, Chang S, Hickie JB. Reduction in plasma cholesterol and increase in biliary cholesterol by a diet rich in n-3 fatty acids in the rat. *J Lipid Res* 1985; 26 (6): 684-689.
- Balestrieri GP, Maffi V, Sleiman I, Spandrio S, Di Stefano O, Salvi A, Scalvini T. Fish oil supplementation in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Recenti Prog Med* 1996; 87 (3): 102-105.
- Ballesta MC, Mañas M, Martínez-Victoria E, Seiquer I, Huertas JR, Matáix FJ. Adaptation of biliary response to dietary olive oil and sunflower-seed oil in dogs. *Br J Nutr* 1992; 68 (1): 175-182.
- Ballesta MC, Mañas M, Matáix J, Martínez-Victoria, E., Seiquer, I. Long-term adaptation of pancreatic response by dogs to dietary fats of different degrees of saturation : olive and sunflower oil. *Br J Nutr* 1990; 64 (2): 487-496.
- Bank N. Renal hemodynamic consequences of hyperlipidemia. *Miner Electrolyte Metab* 1993; 19 (3): 165-172.
- Barash I, Nitsan Z, Nir I. Adaptation of light-bodied chicks to meal feeding: gastrointestinal tract and pancreatic enzymes. *Br Poult Sci* 1993; 34 (1): 35-42.
- Barlow TE, Greenwell JR, Harper AA, Scratcherd T. The influence of the splanchnic nerves on the external secretion, blood flow and electrical conductance of the cat pancreas. *J Physiol* 1974; 236: 421-433.
- Baroni SS, Amelio M, Fiorito A, Gaddi A, Littarru G, Battino M. Monounsaturated diet lowers LDL oxidisability in type Iib and type IV dyslipidemia without affecting coenzyme Q10 and vitamin E contents. *Biofactors* 1999; 9 (2-4): 325-330.
- Baroni SS, Amelio M, Sangiorgi Z, Gaddi A, Battino, M. Solid monounsaturated diet lowers LDL unsaturation trait and oxidisability in hypercholesterolaemic (type Iib) patients. *Free Radic Res* 1999; 30 (4): 275-285.
- Barr SL, Ramakrishnan R, Johnson C, Holleran S, Dell RB, Ginsberg HN. Reducing total dietary fat without reducing saturated fatty acids does not significantly lower total plasma cholesterol concentrations in normal males. *Am J Clin Nutr* 1992; 55 (3): 675-681. Comment in: *Am J Clin Nutr* 1993; 57 (2): 230-231.

- Barradas MA, Christofides JA, Jeremy JY, Mikhailidis DP, Fry DE, Dandona P. The effect of the olive oil supplementation on human platelet function, serum cholesterol-related variables and plasma fibrinogen concentrations: A pilot study. *Nutr Res* 1990; 10: 403-411.
- Bartoli R, Fernández-Banares F, Navarro E, Castella E, Mane J, Álvarez M, Pastor C, Cabre E, Gassull MA. Effect of olive oil on early and late events of colon carcinogenesis in rats: modulation of arachidonic acid metabolism and local prostaglandin E(2) synthesis. *Gut* 2000; 46 (2): 191-199.
- Baur LA, O'Connor J, Pan DA, Kriketos AD, Storlien LH. The fatty acid composition of skeletal muscle membrane phospholipid: its relationship with the type of feeding and plasma glucose levels in young children. *Metabolism* 1998; 47 (1): 106-112.
- Bayerdorffer E, Eckhardt L, Haase W, Schulz I. Electrogenic calcium transport in plasma membrane of rat pancreatic acinar cells. *J Membr Biol* 1985; 84 (1): 45-60.
- Bazin R, Lavau M, Herzog J. Pancreatic lipase and ketogenic conditions. *Biomedicine* 1978; 28 (3): 160-5.
- Bazin R, Lavau M. Diet composition and insulin effect on amylase to lipase ratio in pancreas of diabetic rats. *Digestion* 1979; 19 (6): 386-391.
- Beardshall K, Frost G, Morarji Y, Domin J, Bloom SR, Calam J. Saturation of fat and cholecystokinin release: implications for pancreatic carcinogenesis. *Lancet* 1989; 2 (8670): 1008-1010.
- Beare-Rogers J. Are saturated fatty acids essential in the diet? *Nutr Rev* 1995; 53 (9): 269.
- Beaudoin AR, Begin ME, Eells G, St-Jean P, Laforest L, Proulx J, Vachereau A. Type of dietary lipids exerts a major influence on the secretory activity of the exocrine pancreas: medium-term studies. *Pancreas* 1989; 4 (4): 418-422.
- Beaudoin AR, Gilbert L, St-Jean P, Grondin G, Cabana C. Heterogeneity of the zymogen granule membranes in rat pancreas. *Eur J Cell Biol* 1988; 47 (2): 233-240.
- Becker M, Staab D, Von Bergmann K. Treatment of severe familial hypercholesterolemia in childhood with sitosterol and sitostanol. *J Pediatr* 1993; 122 (2): 292-296.
- Begin ME, Eells G, St-Jean P, Vachereau A, Beaudoin AR. Fatty acid and enzymatic compositional changes in the pancreas of rats fed dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *Int J Pancreatol* 1990; 6 (3): 151-160.
- Beglinger C, Solomon TE, Gyr K, Moroder L, Wunsch E. Exocrine pancreatic secretion in response to a new CCK-analog, CCK33 and caerulein in dogs. *Regul Pept* 1984; 8 (4): 291-296.
- Beglinger C, Taylor IL, Grossman MI, Solomon TE. Pancreatic polypeptide inhibits exocrine pancreatic responses to six stimulants. *Am J Physiol* 1984; 246 (3 Pt 1): G286-G291.
- Behar S, Graff E, Reicher-Reiss H, Boyko V, Benderly M, Shotan A, Brunner D. Low total cholesterol is associated with high total mortality in patients with coronary heart disease. The Bezafibrate Infarction Prevention (BIP) Study Group. *Eur Heart J* 1997; 18 (1): 52-59.
- Beil FU, Terres W, Orgass M, Greten H. Dietary fish oil lowers lipoprotein(a) in primary hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis* 1991; 90 (1): 95-97. Comment in: *Atherosclerosis* 1992; 93 (1-2): 169-170.
- Beisiegel U. New aspects on the role of plasma lipases in lipoprotein catabolism and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1996; 124 (1): 1-8.



- Belleville J, Prost J, Gillet M. Adaptation of lipase and phospholipase A activities in pancreas and pancreatic juice in rats with diets rich in triglycerides and phospholipids. *C R Acad Sci Hebad Seances Acad Sci D* 1978; 286 (12): 1029-1032.
- Bennani-Kabchi N, Fdhil H, Cherrah Y, El Bouayadi F, Kehel L, Marquie G. Therapeutic effect of *Olea europea* var. *oleaster* leaves on carbohydrate and lipid metabolism in obese and prediabetic sand rats (*Psammomys obesus*). *Ann Pharm Fr* 2000; 58 (4): 271-277.
- Bennani-Kabchi N, Kehel L, el Bouayadi F, Fdhil H, Amarti A, Saidi A, Marquie G. New model of atherosclerosis in sand rats subjected to a high cholesterol diet and vitamin D2. *Therapie* 1999; 54 (5): 559-565.
- Bennani-Kabchi N, Fdhil H, Cherrah Y, Kehel L, el Bouayadi F, Amarti A, Saidi M, Marquie G. Effects of *Olea europea* var. *oleaster* leaves in hypercholesterolemic insulin-resistant sand rats. *Therapie* 1999; 54 (6): 717-723.
- Bennett AJ, Billett MA, Salter AM, Mangiapane EH, Bruce JS, Anderton KL, Marenah CB, Lawson N, White DA. Modulation of hepatic apolipoprotein B, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and low-density lipoprotein receptor mRNA and plasma lipoprotein concentrations by defined dietary fats. Comparison of trimyristin, tripalmitin, tristearin and triolein. *Biochem J* 1995; 311 (Pt 1): 167-173.
- Berezziat G. Turnover of fatty acids in cell membranes. *Ann Nutr Aliment* 1980; 34 (2): 241-254.
- Berk PD, Stump DD. Mechanisms of cellular uptake of long chain free fatty acids. *Mol Cell Biochem* 1999; 192 (1-2): 17-31.
- Berlin E, Bhathena SJ, McClure D, Peters RC. Dietary menhaden and corn oils and the red blood cell membrane lipid composition and fluidity in hyper- and normocholesterolemic miniature swine. *J Nutr* 1998; 128 (9): 1421-1428.
- Berlin E, Hannah JS, Yamane K, Peter RC, Howard BV. Fatty acid modification of membrane fluidity in Chinese hamster ovary (TR715-19) cells. *Int J Biochem Cell Biol* 1996; 28 (10): 1131-1139.
- Berman AE, Kozlova NI. Integrins: structure and functions. *Membr Cell Biol* 2000; 13 : 207-244.
- Berr F, Goetz A, Schreiber E, Paumgartner G. Effect of dietary n-3 versus n-6 polyunsaturated fatty acids on hepatic excretion of cholesterol in the hamster. *J Lipid Res* 1993; 34 (8): 1275-1284.
- Berr F, Holl J, Jungst D, Fischer S, Richter WO, Seifferth B, Paumgartner G. Dietary N-3 polyunsaturated fatty acids decrease biliary cholesterol saturation in gallstone disease. *Hepatology* 1992; 16 (4): 960-967.
- Berra B, Adorni L, Montorfano G, Rapelli S, Zoppi S. Lipid composition in human red blood cell membranes during diet with goat dairy products as compared to diet with olive oil. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse* 1997; 74 (7): 281-289, 26 ref.
- Berridge MJ, Irvine RF. Inositol phosphates and cell signalling. *Nature* 1989 Sep 21; 341 (6239): 197-205.
- Berridge MJ. Inositol trisphosphate and diacylglycerol: two interacting second messengers. *Annu Rev Biochem* 1987; 56: 159-193.
- Berry EM, Eisenberg S, Haratz D, Friedlander Y, Norman Y, Kaufmann NA, Stein Y: Effects of diets rich in monounsaturated fatty acids on plasma lipoproteins-The Jerusalem Nutrition Study: High MUFA vs. high PUFAs. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 899-907.

- Beyers EM, Comfurius P, Dekkers DWC, Zwaal RFA. Lipid translocation across the plasma membrane of mammalian cells. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1439 (3): 317-330.
- Beynen AC, Meijer GW, Van der Meer R. Comparison of rats with mice concerning the response of lipid metabolism to dietary fats. *Z Ernährungswiss* 1988; 27 (3): 143-149.
- Beynen AC. Dietary monounsaturated fatty acids and liver cholesterol. *Artery* 1988; 15 (3): 170-175.
- Bhuiyan J, Pritchard PH, Pande SV, Seccombe DW. Effects of high-fat diet and fasting on levels of acyl-coenzyme A binding protein in liver, kidney, and heart of rat. *Metabolism* 1995; 44 (9): 1185-1189.
- Bilski J, Hladij M, Jaworek J, Konturek SJ, Varga G. Effects of peptide YY on dog and rat pancreatic secretion in vivo and in vitro. *Int J Pancreatol* 1988; 3 (5): 309-321.
- Bilski J, Konturek JW, Konturek SJ, Domschke W. The involvement of endogenous nitric oxide in vagal-cholinergic stimulation of exocrine and endocrine pancreas in dogs. *Int J Pancreatol* 1995b; 18 (1): 41-49.
- Bilski J, Konturek SJ, Bielanski W. Role of endogenous nitric oxide in the control of exocrine and endocrine pancreatic secretion. *J Physiol Pharmacol* 1995a; 46 (4): 447-462.
- Bissonnette BM, Collen MJ, Adachi H, Jensen RT, Gardner JD. Receptors for vasoactive intestinal peptide and secretin on rat pancreatic acini. *Am J Physiol* 1984; 246 (6 Pt 1): G710-G717.
- Blackmore VL, Meckling-Gill KA. Fish oil and oleic acid-rich oil feeding alter nucleoside uptake in human erythrocytes. *J Nutr Biochem* 1995; 6 (8): 438-444.
- Blair EL, Brown JC, Harper AA, Scratcherd T. A gastric phase of pancreatic secretion. *J Physiol* 1966; 184 (4): 812-824.
- Blaton V, De Buyzere M, Declercq B, Pracetyo A, Vanderkelen G, Delanghe J, Spincemaille J. Effect of polyunsaturated isocaloric fat diets on plasma lipids, apolipoproteins and fatty acids. *Atherosclerosis* 1984; 53 (1): 9-20.
- Blomfield J, Setttee PJ. Ultrastructural responses of rat exocrine pancreas to cholecystokinin octapeptide and secretin. *Exp Mol Pathol* 1983; 38 (3): 389-397.
- Blomstrand R., Diczfalusy U., Sisfontes L., Svensson L. Influence of dietary partially hydrogenated vegetable and marine oils on membrane composition and function of liver microsomes and platelets in the rat. *Lipids* 1985; 20 (5): 283-295.
- Bloom W, Fawcett DW. Páncreas. En: *Tratado de histología*. Ed: Labor, S.A., 1981; 728-744.
- Bockman, DE. Anatomy of the pancreas. En: Go, V.L.M. *The pancreas: biology, pathobiology and disease*. Ed. New York, Raven Press 1993; 1-8.
- Boden G, Master RW, Sattler MA, Martin JS, Tansy MF, Owen OE. Adrenergic control of somatostatin release. *Endocrinology* 1982; 111 (4): 1166-1172.
- Boehm G, Borte M, Muller H, Moro G, Minoli I. Activities of trypsin and lipase in duodenal aspirates of preterm infants: influence of dietary protein and fat composition. *Am J Clin Nutr* 1995; 61 (3): 524-527.
- Boerwinkle E, Leffert CC, Lin J, Lackner C, Chiesa G, Hobbs HH. Apolipoprotein(a) gene accounts for greater than 90% of the variation in plasma lipoprotein(a) concentrations. *J Clin Invest* 1992; 90 (1): 52-60.
- Boivin M, Lanspa SJ, Zinsmeister AR, Go VL, DiMaggio EP. Are diets associated with different rates of human interdigestive and postprandial pancreatic enzyme secretion? *Gastroenterology* 1990; 99 (6): 1763-1771.

- Borel P, Armand M, Senft M, Andre M, Lafont H, Lairon D. Gastric lipase: evidence of an adaptive response to dietary fat in the rabbit. *Gastroenterology* 1991; 100 (6): 1582-1589.
- Bourdel G. Effect of separate feeding of proteins and lipids on pancreatic adaptation in the rat. *Am J Physiol* 1983; 244 (2): G125-130.
- Bourre JM, Dumont O, Piciotti M, Pascal G, Durand G. Nutritional fatty acids control. Composition and function of cerebral membranes. *Bibl Nutr Dieta* 1990; 46: 95-103.
- Bowen HT, Omaye ST. Oxidative changes associated with beta-carotene and alpha-tocopherol enrichment of human low-density lipoproteins. *J Am Coll Nutr* 1998; 17 (2): 171-179. Comment in: *J Am Coll Nutr* 1998; 17 (5): 468-469.
- Boyle E, German JB. Monoglycerides in membrane systems. *Critical Rev Foods Sci Nutr* 1996; 36 (8): 785-805, 69 ref.
- Bozkurt T, Haberich FJ. Physiological studies of exocrine pancreatic secretion in conscious rats. 7 th communication: short-term kinetics of adaptation of digestive enzymes to different nutritional stimuli. *Z Gastroenterol* 1985; 23 (5): 257-266.
- Brannon PM. Adaptation of the exocrine pancreas to diet. *Ann Rev Nutr* 1990; 10: 85-105.
- Brasitus TA, Dudeja PK, Bolt MJ, Sitrin MD, Baum C. Dietary triacylglycerol modulates sodium-dependent D-glucose transport, fluidity and fatty acid composition of rat small intestinal brush-border membrane. *Biochim Biophys Acta* 1989; 979 (2): 177-186.
- Bravo E, Flora L, Cantafora A, De Luca V, Tripodi M, Avella M, Botham KM. The influence of dietary saturated and unsaturated fat on hepatic cholesterol metabolism and the biliary excretion of chylomicron cholesterol in the rat. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1390 (2): 134-148.
- Brenner RR. Nutritional and hormonal factors influencing desaturation of essential fatty acids. *Prog Lipid Res* 1981; 20: 41-47.
- Breslow JL. Mouse models of atherosclerosis. *Science* 1996; 272 (5262): 685-688.
- Brodt-Eppley J, Hui DY. Dietary regulation of cholesterol esterase mRNA level in rat pancreas. *J Lipid Res* 1994; 35 (1): 27-35.
- Brousseau ME, Hoeg JM. Transgenic rabbits as models for atherosclerosis research. *J Lipid Res* 1999; 40 (3): 365-375.
- Brousseau ME, Ordovas JM, Nicolosi RJ, Schaefer EJ. Effects of dietary fat saturation on plasma lipoprotein(a) and hepatic apolipoprotein(a) mRNA concentrations in cynomolgus monkeys. *Atherosclerosis* 1994; 106 (1): 109-118.
- Brown SA, Morrisett J, Patsch JR, Reeves R, Gotto AM Jr, Patsch W. Influence of short term dietary cholesterol and fat on human plasma Lp[a] and LDL levels. *J Lipid Res* 199; 32 (8): 1281-1289.
- Brown DA, London E. Functions of lipid rafts in biological membranes. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1998; 14: 111-136.
- Brown SA, Brown CA, Crowell WA, Barsanti JA, Kang CW, Allen T, Cowell C, Finco DR. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid supplementation in early renal insufficiency in dogs. *J Lab Clin Med* 2000; 135 (3): 275-286.
- Bruce A. et al. *Introducción a la Biología Celular*. Ed. Omega, S.A. Barcelona (1999).
- Bruce A, Dennis B, Julian L, Martin R, Keith R. and James DW. *Molecular Biology of the Cell*. 3rd edn. Garland Publishing, Inc (1994).
- Brugge WR, Burke CA, Izzo RS, Praissman M. Role of cholecystokinin in intestinal phase of human pancreatic secretion. *Dig Dis Sci* 1987; 32 (2): 155-163.

- Brunner H, Northfield TC, Hofmann AF, Go VLW, Summerskill WHJ. Gastric emptying and secretion of bile acids, cholesterol and pancreatic enzymes during digestion. *Mayo Clin Proc* 1974; 49: 851-860.
- Buchler M, Malfertheiner P, Friess H, Eiberle E, Beger HG. Gut peptide-mediated adaptive response of the exocrine pancreas. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1988; 151: 114-122.
- Bucko A. and Kopec Z. Adaptation of enzymes activity of the rat pancreas on altered food intake. *Nutr Dieta Basel* 1968; 10: 276-287.
- Bucko A, Kopec Z, Ovecká M, Grunt J. Adaptability of pancreatic enzymes activity to various food nutritive values in man. Influence of high protein diet. *Nahrung* 1982; 26 (1): 59-64.
- Buffa R, Solcia E. and Go VLW. Immunocytochemical identification of the cholecystokinin cell in the intestinal mucosa. *Gastroenterology* 1976; 70: 528-532.
- Buhner S, Nagel E, Stockhorst H, Korber J, Sagredos AN, Pichlmayr R. Influence of heated and nonheated partially hydrogenated dietary fats on ileal chyme fat and fatty acid composition of ileal mucosa in pigs. *Dig Dis Sci* 1995; 40 (2): 338-345.
- Burns CP, Rosenberger JA, Luttenegger DG. Selectivity in modification of the fatty acid composition of normal mouse tissues and membranes in vivo. *Ann Nutr Metab* 1983; 27 (4): 268-277.
- Burri BJ, Dougherty RM, Kelley DS, Iacono JM. Platelet aggregation in humans is affected by replacement of dietary linoleic acid with oleic acid. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 359-362.
- Cabana C, Magny P, Nadeau D, Grondin G, Beaudoin A. Freeze-fracture study of the zymogen granule membrane of pancreas: two novel types of intramembrane particles. *Eur J Cell Biol* 1988; 45 (2): 246-55.
- Caillol N, Pasqualini E, Mas E, Valette A, Verine A, Lombardo D. Pancreatic bile salt-dependent lipase activity in serum of normolipidemic patients. *Lipids* 1997; 32 (11): 1147-1153.
- Calder PC. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31 (4): 467-490.
- Calflisch CR, Solomon S, Galey WR. Insitu micropuncture study of pancreatic duct pH. *Am J Physiol* 1980; 238: 263-268.
- Calpena R, Medrano J, Pardo JM, Pérez MT, Carbonell MA, Belinchon I, Candela F, Díez M. Interacción entre la secretina y CCK en la estimulación de la función exocrina pancreática en el perro. *Cirugía Española* 1987; 42: 830-837.
- Calvo EL, Vaccaro MI, Tumilasci OR, Iovanna JL. Synthesis and contents of pancreatic exportable enzymes. Effect of oleic acid intraduodenal administration. *Acta Physiol Pharmacol Latinoam* 1988; 38: 145-150.
- Calvo JJ, De Dios O, Plaza MA., San Román JI, López MA. Alpha-adrenergic influences on exocrine pancreatic secretion in the rabbit. *Arch Int Physiol Biochim* (En prensa).
- Camello C, Lajas AI, Gonzalez A, Camello PJ, Pariente JA. Histamine does not potentiate cyclic AMP-mediated amylase secretion in the guinea-pig pancreatic acinar cells. *Gen Pharmacol* 1997; 29 (2): 211-215.
- Camello PJ, Wisdom D, Singh J, Francis LP, Salido GM. Effect of phorbol ester on vagal stimulation and acetylcholine-evoked exocrine pancreatic secretion and cytosolic free calcium in the rat. *Arch Int Physiol Biochim Biophys* 1993; 101 (2): 133-139.
- Camello PJ, Wisdom DM, Singh J, Salido GM. Hormonal control of exocrine pancreatic secretion in the isolated intact rat pancreas. *Rev Esp Fisiol* 1994; 50 (1): 35-40.

- Campbell CB, Cowley DJ, Dowling RH. Dietary factors affecting biliary lipid secretion in the rhesus monkey. A mechanism for the hypocholesterolaemic action of polyunsaturated fat? *Eur J Clin Invest* 1972; 2 (5): 332-341.
- Campbell GS, Pang L, Miyasaka T, Saltiel AR, Carter-Su C. Stimulation by growth hormone of MAP kinase activity in 3T3-F442A fibroblasts. *J Biol Chem* 1992; 267 (9): 6074-6080.
- Cantor P, Olsen O, Gertz BJ, Gjorup I, Worning H. Inhibition of cholecystokinin-stimulated pancreaticobiliary output in man by the cholecystokinin receptor antagonist MK-329. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26 (6): 627-637.
- Carballo Álvarez F. and Dominguez-Muñoz JE. The clinical utility of the quotient of lipase-amylase and polymorphonuclear elastase in acute pancreatitis. *Rev Esp Enferm Dig* 1998; 90 (2): 126-127.
- Carlson TL, Kottke BA. ApoA-I secretion by rabbit intestinal mucosa cell cultures. *Lipids* 1991; 26 (9): 684-688.
- Carlsson C, Borg LA, Welsh N. Sodium palmitate induces partial mitochondrial uncoupling and reactive oxygen species in rat pancreatic islets in vitro. *Endocrinology* 1999; 140 (8): 3422-3428.
- Carmena MJ, Hueso C, Guijarro LG, Prieto JC. Cholesterol modulation of membrane fluidity and VIP receptor/effector system in rat prostatic epithelial cells. *Regul Pept* 1991; 33(3):287-97.
- Carr AC, Zhu BZ, Frei B. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). *Circ Res* 2000; 87 (5): 349-354.
- Carroll JF, Mizelle HL, Cockrell K, Reckelhoff JF, Clower BR, Granger JP. Cholesterol feeding does not alter renal hemodynamic response to acetylcholine and angiotensin II in rabbits. *Am J Physiol* 1997; 272 (3 Pt 2): R940-R947.
- Cartwright IJ, Higgins JA. Increased dietary triacylglycerol markedly enhances the ability of isolated rabbit enterocytes to secrete chylomicrons: an effect related to dietary fatty acid composition. *J Lipid Res* 1999; 40: 1858-1866.
- Casals C, Herrera L, Garcia-Barreno P, Municio AM. Association of changes in lysophosphatidylcholine metabolism and in microsomal membrane lipid composition to the pulmonary injury induced by oleic acid. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1023 (2): 290-7.
- Case RM. Synthesis, intracellular transport and discharge of exportable proteins in the pancreatic acinar cell and other cells. *Biol Rev Camb Philos Soc* 1978; 53 (2): 211-354.
- Case RM, Argent BE. Pancreatic duct cell secretion. Control and mechanisms of transport. En: *Go VLM. The pancreas: biology, pathobiology and disease*. Ed. New York, Araven Press 1993; 301-350.
- Case RM, Argent BE. Pancreatic secretion of electrolites and water. En: *Handbook of Physiology. Section 6: The gastrointestinal system. Vol. III. Salivary, gastric, pancreatic and hepatobiliary secretion*. Ed: Schulz, Forte and Rauner. American Physiological Society, Bethesda, Maryland 1989; 383-417.
- Castelli W. Epidemiology of coronary heart disease. *Am J Med* 1984; 76 (2A): 4-12.
- Castelli WP, Anderson K. A population at risk. Prevalence of high cholesterol levels in hypertensive patients in the Framingham study. *Am J Med* 1986; 80(2<sup>a</sup>): 23-32.
- Castillo M, Hortal JH, García-Fuentes E, Zafra MF, García-Peregrín E. Coconut oil affects lipoprotein composition and structure of neonatal chicks. *J Biochem Tokyo* 1996; 119 (4): 610-616.

- Castro CE, Armstrong-Major J, Ramírez ME. Diet-mediated alteration of chromatin structure. *Fed Proc* 1986; 45 (9): 2394-2398.
- Cater NB, Heller HJ, Denke MA. Comparison of the effects of medium-chain triacylglycerols, palm oil, and high oleic acid sunflower oil on plasma triacylglycerol fatty acids and lipid and lipoprotein concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 1997; 65 (1): 41-45. Comment in: *Am J Clin Nutr* 1997; 66 (2): 447-449. *Am J Clin Nutr* 1997; 66 (3): 710-712.
- Cazeils JL, Bouillier Oudot M, Auvergne A, Candau M, Babile R. Lipid composition of hepatocyte plasma membranes from geese overfed with corn. *Lipids* 1999; 34 (9): 937-942.
- Chaillan C, Kerfelec B, Foglizzo E, Chapus C. Direct involvement of the C-terminal extrmity of pancreatic lipase (403-449) in colipase binding. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 184 (1): 206-211.
- Chamberlain LH, Burgoyne RD, Gould GW. SNARE proteins are highly enriched in lipid rafts in PC12 cells: implications for the spatial control of exocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98 (10): 5619-5624.
- Chapman D, Benga G. Biomembrane fluidity studies of model and natural membranes. In *Biological Membranes* (D. Chapman, ed.), Vol. 5, pp.1-56. London: Academic de Kruiff, B. Lipid polymorphism and membrane function. In *The Enzymes of Biological Membranes*, Vol 1, Membrane Structure and Dynamics, 2<sup>nd</sup> ed. (A.N. Martonosi, ed.), pp. 131-204. New York: Plenum, 1985.
- Chapus C, Roverly M, Sarda L, Verger R. Minireview on pancreatic lipase and colipase. *Biochimie* 1988; 70 (9): 1223-1234.
- Charnock JS, Abeywardena MY, McMurchie EJ, Russell GR. The composition of cardiac phospholipids in rats fed different lipid supplements. *Lipids* 1984; 19 (3): 206-213.
- Chase CW, Barker DE, Russell WL, Burns RP. Serum amylase and lipase in the evaluation of acute abdominal pain. *Am Surg* 1996; 62 (12): 1028-1033.
- Chebli JM, de Souza AF, de Paulo GA, Pace FH, Alves RA, Froede EC, Meirelles Gd, do Carmo LA, Ribeiro TC, Ribeiro AM, Lopes MH, Ferreira LE, Gaburri PD. Hyperlipemic pancreatitis: clinical course. *Arq Gastroenterol* 1999; 36 (1): 4-9.
- Cheema SK, Cikaluk D, Agellon LB. Dietary fats modulate the regulatory potential of dietary cholesterol on cholesterol 7 alpha-hydroxylase gene expression. *J Lipid Res* 1997; 38 (2): 315-323.
- Cheema SK, Clandinin MT. Dietary fat-induced suppression of lipogenic enzymes in B/B rats during the development of diabetes. *Lipids* 2000; 35 (4): 421-425.
- Chen D, Yang T, Song F, Ruan G, Liu S. The inhibitory effects of antioxidant vitamins on serum oxLDL and experimental atherosclerosis of rabbits. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 1997; 19 (6): 451-455.
- Chen LC, Boissonneault G, Hayek MG, Chow CK. Dietary fat effects on hepatic lipid peroxidation and enzymes of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolism and NADPH generation. *Lipids* 1993; 28 (7): 657-662.
- Chen MF, Hsu HC, Liao CS, Lee YT. The role of vitamin E on the anti-atherosclerotic effect of fish oil in diet-induced hypercholesterolemic rabbits. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 1999; 57 (2-3): 99-111.
- Chey WY, Chang TM. Secretin. En: Makhlof GM, Rauner BB. *Handbook of Physiology. The gastrointestinal sustem II*. Maryland, American Physiological Society 1989; 359-402.

- Chey WY, Kim MS, Lee KY, Chang TM. Effect of rabbit antisecretin serum on postprandial pancreatic secretion in dogs. *Gastroenterology* 1979; 77 (6): 1268-1275.
- Chey WY, Kim MS, Lee KY, Chang TM. Secretin is an enterogastrone in the dog. *Am J Physiol* 198; 240 (3): G239-G244.
- Chey WY. Hormonal control of pancreatic exocrine secretion. En: *The exocrine pancreas: biology, pathobiology and diseases*. Ed: Go VLW, Gardner, J.D., Brooks, F.P., Lebenthal, E., Dimagno, E.P., Scheele, E. Raven Press. New York 1993; 301-313.
- Chey WY, Chang TM, Lee KY, Rominger J, Rhodes RA, You CH. Secretin physiology. En: *Gut Hormones*. Bloom, S.R.; Polak, J.M. (Eds.) Churchill Livingstone, Edinburgh, 1981; 213-219.
- Chisholm A, Mann J, Sutherland W, Duncan A, Skeaff M, Frampton C. Effect on lipoprotein profile of replacing butter with margarine in a low fat diet: randomised crossover study with hypercholesterolaemic subjects. *BMJ* 1996; 312 (7036): 931-934.
- Chong KS, Nicolosi RJ, Rodger RF, Arrigo DA, Yuan RW, MacKey JJ, Georas S, Herbert PN. Effect of dietary fat saturation on plasma lipoproteins and high density lipoprotein metabolism of the rhesus monkey. *J Clin Invest* 1987; 79 (3): 675-683.
- Chowdhury P, Nishikawa M, Blevins GW Jr, Rayford PL. Response of rat exocrine pancreas to high-fat and high-carbohydrate diets. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 223 (3): 310-315.
- Christian RC, Fitzpatrick LA. Vascular calcification. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1999; 8 (4): 443-448.
- Christon R, Haloui RB, Durand G. Dietary polyunsaturated fatty acids and aging modulate glutathione-related antioxidants in rat liver. *J Nutr* 1995; 125 (12): 3062-3070.
- Christophe J, Camus J, Deschodt-Lanckman M, Rathe J, Robberecht P, Vandermeers-Piret MC, Vandermeers A. Factors regulating biosynthesis, intracellular transport and secretion of amylase and lipase in the rat exocrine pancreas. *Horm Metab Res* 1971; 3 (6): 393-403.
- Christophe J, Svoboda M, Lambert M, Waelbroeck M, Winand J, Dehaye JP, Vandermeers-Piret MC, Vandermeers A, Robberecht P. Effector mechanisms of peptides of the VIP family. *Peptides* 1986; 7 Suppl 1: 101-107.
- Ciok J, Dzieniszewski J, Gabryelewicz A, Dlugosz J, Charzewska J, Chwojnowska Z. Role of nutrition in development of chronic alcoholic pancreatitis. *Wiad Lek* 1993; 46 (15-16): 573-580.
- Clamp AG, Ladha S, Clark DC, Grimble RF, Lund EK. The influence of dietary lipids on the composition and membrane fluidity of rat hepatocyte plasma membrane. *Lipids* 1997; 32 (2): 179-184.
- Clandinin MT, Cheema S, Field CJ, Garg ML, Venkatraman J, Clandinin TR. Dietary fat: exogenous determination of membrane structure and cell function. *FASEB J* 1991; 5 (13): 2761-2769.
- Clandinin MT, Cheema S, Pehowich D, Field CJ. Effect of polyunsaturated fatty acids in obese mice. *Lipids* 1996; 31 suppl: S31-S22.
- Clandinin MT, Cook SL, Konrad SD, Goh YK, French MA. The effect of palmitic acid on lipoprotein cholesterol levels and endogenous cholesterol synthesis in hyperlipidemic subjects. *Lipids* 1999; (34 Suppl): S121-S124.
- Clandinin MT, Field CJ, Hargreaves K, Morson L, Zsigmond E. Role of diet fat in subcellular structure and function. *Can J Physiol Pharmacol* 1985; 63 (5): 546-556.
- Clandinin MT, Foot M, Robson L. Plasma membrane: can its structure and function be modulated by dietary fat? *Comp Biochem Physiol B* 1983; 76 (2): 335-339.

- Clandinin MT, Jumpsen PJ, Miyoung S. Relationship between fatty acid accretion, membrane composition, and biologic functions. *J Pediatr* 1994; 125 (2): S25-32.
- Clandinin MT, Suh M, Hargreaves K. Impact of dietary fatty acid balance on membrane structure and function of neuronal tissues. *Adv Exp Med Biol* 1992; 318: 197-210.
- Clandinin MT, Wang LC, Rajotte RV, French MA, Goh YK, Kielo ES. Increasing the dietary polyunsaturated fat content alters whole-body utilization of 16:0 and 10:0. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 1052-1057.
- Clarke SD. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a mechanism to improve energy balance and insulin resistance. *Br J Nutr* 2000; 83 Suppl 1: S59-S66.
- Clarke SD, Abraham S. Gene expression: nutrient control of pre- and posttranscriptional events. *FASEB J* 1992; 6 (13): 3146-3152.
- Clarke SD, Baillie R, Jump DB, Nakamura MT. Fatty acid regulation of gene expression. Its role in fuel partitioning and insulin resistance. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 827: 178-187.
- Clarke SD, Jump DB. Polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Lipids* 1996; 31 Suppl: S7-S11.
- Clevidence BA, Judd JT, Schatzkin A, Muesing RA, Campbell WS, Brown CC, Taylor PR. Plasma lipid and lipoprotein concentrations of men consuming a low-fat, high-fiber diet. *Am J Clin Nutr* 1992; 55 (3): 689-694.
- Coelho AM, Kubrusly MS, Bonizzia A, González Y, Abdo EE, Machado MC. Protective effect of pancreatic enzyme depletion in the course of acute pancreatitis experimental study in rats. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 1993; 48 (3): 106-111.
- Cohen BI, Mosbach EH, Ayyad N, Miki S, McSherry CK. Dietary fat and fatty acids modulate cholesterol cholelithiasis in the hamster. *Lipids* 1992; 27 (7): 526-532.
- Colome C, Alonso R, Mata P, Badimon L. Effects of dietary fatty acids and vitamin E levels in HL-60 cell proliferation. *Eur J Clin Invest* 1999; 29 (2): 129-138.
- Colwell NS, Aleman-Gómez JA, Sasser T, Kumar VB. Cloning and characterization of rabbit pancreatic colipase. *Int J Biochem* 1993; 25 (6): 885-890.
- Connor WE, Connor SL. Importance of diet in the treatment of familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 1993; 72: 42D-53D.
- Connor WE, Lin DS, Thomas G, Ey F, DeLoughery T, Zhu N. Abnormal phospholipid molecular species of erythrocytes in sickle cell anemia. *J Lipids Res* 1997; 38 (12): 2516-2528.
- Connor WE, Neuringer M, Lin DS. Dietary effects on brain fatty acid composition: the reversibility of n-3 fatty acid deficiency and turnover of docosahexaenoic acid in the brain, erythrocytes and plasma of rhesus monkeys. *J Lipid Res* 1990; 31 (2): 237-247.
- Coppolino MG, Dedhar, S. Bi-directional signal transduction by integrin receptors. *Int J Biochem Cell Biol* 2000; 32 (2): 171-188.
- Corella-Piquer D, Cortina-Greus P, Coltell-Simon O. Nutritional factors and geographic differences in pancreatic cancer mortality in Spain. *Rev Sanid Hig Publica Madr* 1994; 68 (3): 361-376.
- Corring T, Gueugneau AM, Chayvialle JA. Short-term (8 day) effects of a raw soybean diet on exocrine pancreatic secretion and plasma gastrointestinal hormone levels in the pig. *Reprod Nutr Dev* 1986; 26 (2A): 503-514.
- Corring T, Mourot J, Charles M, Leger C. Removal and addition of bile in the intestine, and pancreatic colipase activity in the pig: effect of a high-lipid diet. *Ann Nutr Metab* 1982; 26 (2): 77-82.



- Corsetti JP, Cox C, Schulz TJ, Arvan DA. Combined serum amylase and lipase determinations for diagnosis of suspected acute pancreatitis. *Clin Chem* 1993; 39 (12): 2495-2499.
- Coudray C, Hida H, Boucher F, Tirard V, de Leiris J, Favier A. Effect of selenium supplementation on biological constants and antioxidant status in rats. *J Trace Elem Med Biol* 1996; 10 (1): 12-19.
- Cousins RJ. Nutritional regulation of gene expression. *Ann J Med* 1999; 106 (1 A): 20S-23S; discussion 50S-51S.
- Cox ME, Ely CM, Catling AD, Weber MJ, Parsons SJ. Tyrosine kinases are required for catecholamine secretion and mitogen-activated protein kinase activation in bovine adrenal chromaffin cells. *J Neurochem* 1996; 66 (3): 1103-1112.
- Cox C, Mann J, Sutherland W, Chisholm A, Skeaff M. Effects of coconut oil, butter, and safflower oil on lipids and lipoproteins in persons with moderately elevated cholesterol levels. *J Lipids Res* 1995; 36 (8): 1787-1795.
- Cresta MA, Ponzio O, Resnik R, Rondina D, Mareso E, Moguilevsky, J, Scacchi P. Cerulein-induced acute pancreatitis enhanced by chronic hyperlipidic diet in the rat. *Acta Gastroenterol Latinoam* 1997; 27 (5): 313-317.
- Criado M, Eibl H, Barrantes FJ. Functional properties of the acetylcholine receptor incorporated in model lipid membranes. Differential effects of chain length and head group of phospholipids on receptor affinity states and receptor-mediated ion translocation. *J Biol Chem* 1984; 259 (14): 9188-9198.
- Cuchel M, Schwab US, Jones PJ, Vogel S, Lammi-Keefe C, Li Z, Ordovas J, McNamara JR, Schaefer EJ, Lichtenstein AH. Impact of hydrogenated fat consumption on endogenous cholesterol synthesis and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation in moderately hypercholesterolemic individuals. *Metabolism* 1996; 45 (2): 241-247.
- Curb JD, Wergowske G, Dobbs JC, Abbott RD, Huang B. Serum lipid effects of a high-monounsaturated fat diet based on macadamia nuts. *Arch Intern Med* 2000; 160 (8): 1154-1158.
- Dagnelie PC, Rietveld T, Swart GR, Stijnen T, van der Berg JWO. Effect of dietary fish oil on blood levels of free fatty acids, ketone bodies and triacylglycerol in humans. *Lipids* 1994; 29 (1): 41-45.
- Dagorn JC, La Bella A, Lahaie RG, Sarles H. Modifications in pancreatic enzyme proportions following secretory stimulations. *Digestion* 1984; 29 (3): 152-157.
- Dagorn JC, Lahaie RG. Dietary regulation of pancreatic protein synthesis. I. Rapid and specific modulation of enzyme synthesis by changes in dietary composition. *Biochim Biophys Acta* 1981; 654 (1): 111-118.
- Dahlen GH, Slunga L, Lindblom B. Importance of Lp(a) lipoprotein and HLA genotypes in atherosclerosis and diabetes. *Clin Genet* 1994; 46 (1 Spec No): 46-51.
- Dakka N, Wicker C, Puigserver A. Specific response of serine protease mRNA to a protein-free diet in the rat pancreas. *Eur J Biochem* 1988; 176 (1): 231-236.
- Dakka N, Puigserver A, Wicker C. Regulation by a protein-free carbohydrate-rich diet of rat pancreatic mRNAs encoding trypsin and elastase isoenzymes. *Biochem J* 1990; 268 (2): 471-474.
- Daley SJ, Herderick EE, Cornhill JF, Rogers KA. Cholesterol-fed and casein-fed rabbit models of atherosclerosis. Part 1: Differing lesion area and volume despite equal plasma cholesterol levels. *Arterioscler Thromb* 1994; 14 (1): 95-104.

- Daley SJ, Klemp KF, Guyton JR, Rogers KA. Cholesterol-fed and casein-fed rabbit models of atherosclerosis. Part 2: Differing morphological severity of atherogenesis despite matched plasma cholesterol levels. *Arterioscler Thromb* 1994; 14 (1): 105-141.
- Dallas Via L, Stimamiglio M, Scapin M, Cesaro L and Deana R. Correlation between cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration, protein phosphorylation and platelet secretion. *Cell Calcium* 1996; 20: 431-440.
- Dannenber AJ, Zakim D. Dietary lipid regulates the amount and functional state of UDP-glucuronosyltransferase in rat liver. *J Nutr* 1992; 122 (8): 1607-1613.
- Daveloose D, Linard A, Arfi T, Viret J, Christon R. Simultaneous changes in lipid composition, fluidity and enzyme activity in piglet intestinal brush border membrane as affected by dietary polyunsaturated fatty acid deficiency. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1166 (2-3): 229-237.
- Davies HA, Wheeler MH, Psaila J, Rhodes J, Newcombe RG, Jones JM, Procter D, Adrian TE, Bloom SR. Bile exclusion from the duodenum. Its effect on gastric and pancreatic function in the dog. *Dig Dis Sci* 1985; 30 (10): 954-960.
- Dawber TR. The Framingham study. The epidemiology of atherosclerotic disease. Cambridge: Harvard University Press, 1980.
- De Antueno RJ, Cantrill RC, Huang YS, Elliot M, Horrobin DF. Relationship between mouse liver delta 9 desaturase activity and plasma lipids. *Lipids* 1993; 28 (4): 285-290.
- De Bosch NB, Bosch V, Apitz R. Dietary fatty acids in athero-thrombogenesis: influence of palm oil ingestion. *Haemostasis* 1996; 26 Suppl 4: 46-54.
- De Craemer D, Roels F, Van den Branden C. Rapid effects of dietary fish oil on peroxisomes in mouse liver. *Eur J Morphol* 1993; 31 (1-2): 77-81.
- De Dios I, Garcia-Montero AC, Orfao A, Manso MA. Selective exocytosis of zymogen granules induces non-parallel secretion in short-term cholecystokinin-stimulated rats. *J Endocrinol* 1999; 163 (2): 199-206.
- De Dios I, Calvo JJ, San Román JI, Plaza MA, López MA. Effect of isoproterenol on exocrine pancreatic secretion in the rabbit. *Med. Sci. Res* 1987; 15: 979.
- De Jong AJ, Hopman WP, Jansen JB, Lamers CB. Effect of medium-chain triglycerides and long-chain triglycerides on plasma pancreatic polypeptide secretion in man. *Regul Pept* 1985; 11 (1): 77-81.
- De Pablo MA, Álvarez de Cienfuegos G. Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. *Immunol Cell Biol* 2000; 78 (1): 31-39.
- De Schrijver R, Privett OS. Interrelationship between dietary trans fatty acids and the 6 and 9 desaturases in the rat. *Lipids* 1982; 17 (1): 27-34.
- Debas HT, Grossman MI. Pure cholecystokinin: pancreatic protein and bicarbonate response. *Digestion* 1973; 9 (6):469-481.
- Del Moral ML, Esteban FJ, Torres MI, Camacho MV, Hernandez R, Jimenez A, Aranega A, Pedrosa JA, Peinado MA. High-fat sunflower and olive oil diets affect serum lipid levels in steatotic rat liver differently. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1997; 43 (1): 155-160.
- Delas I, Popovic M, Delas F. Changes in tissue fatty acid composition due to a fat free diet. *Food Technology and Biotechnology* 1999; 37 (3): 173-179.
- De-Leeuw FE, Cees-De-Groot J, Oudkerk M, Witteman JC, Hofman A, van-Gijn J, Breteler MM. Aortic atherosclerosis at middle age predicts cerebral white matter lesions in the elderly. *Stroke* 2000; 31 (2): 425-429.

- Dembinski A, Gregory H, Konturek SJ, Polanski M. Trophic action of epidermal growth factor on the pancreas and gastroduodenal mucosa in rats. *J Physiol* 1982; 325:35-42.
- Demol P, Sarles H. Action of fatty acids on the exocrine pancreatic secretion of the conscious rat: further evidence for a protein pancreatic inhibitory factor. *J Physiol* 1978; 275: 27-37.
- Denke MA. Lack of efficacy of low-dose sitostanol therapy as an adjunct to a cholesterol-lowering diet in men with moderate hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 1995; 61 (2): 392-396.
- Deschodt-Lanckman M, Robberecht P, Camus J, Christophe J. Short-term adaptation of pancreatic hydrolases to nutritional and physiological stimuli in adult rats. *Biochimie* 1971; 53: 789-796.
- Devaraj S, Jialal I. The effects of alpha-tocopherol on critical cells in atherogenesis. *Curr Opin Lipidol* 1998; 9 (1): 11-15.
- Diaz-Fontdevila M, Bustos-Obregon E, Fornes M. Distribution of filipin-sterol complexes in sperm membranes from hypercholesterolaemic rabbits. *Andrología* 1992; 24 (5): 279-283.
- Dick J and Felber J. Specific hormonal regulation by food of the pancreas enzymatic (amylase and trypsin) secretion. *Horm Metab Res* 1975; 7: 161-166.
- Diplock AT. Metabolic and functional defects in selenium deficiency. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1981; 294 (1071): 105-117.
- Dixon JL, Stoops JD, Parker JL, Laughlin MH, Weisman GA, Sturek M. Dyslipidemia and vascular dysfunction in diabetic pigs fed an atherogenic diet. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19 (12): 2981-2992.
- Domenech Calve, J, Sánchez Cano JJ, Sánchez Marín A, Sánchez Pérez J, Guspi Sáiz F, Beltran Llusá N, del Castillo Dejardin D. Macroamylasemia in the differential diagnosis of acute pancreatitis. *Rev Clin Esp* 1999; 199 (7): 440-441.
- Douaire M, Le Fur N, el Khadir-Mounier C, Langlois P, Flamant F, Mallard J. Identifying genes involved in the variability of genetic fatness in the growing chicken. *Poult Sci* 1992; 71 (11): 1911-1920.
- Douglas WW. Stimulus-secretion coupling: the concept and clues from chromaffin and other cells. *Br J Pharmacol* 1968; 34 (3): 453-474.
- Douglas BR, Jansen JB, de Jong AJ, Lamers CB. Effect of various triglycerides on plasma cholecystokinin levels in rats. *J Nutr* 1990; 120 (7): 686-690.
- Dreon DM, Fernstrom HA, Campos H, Blanche P, Williams PT, Krauss RM. Change in dietary saturated fat intake is correlated with change in mass of large low-density-lipoprotein particles in men. *Am J Clin Nutr* 1998; 67 (5): 828-836.
- Dror Y, Shamgar A, Budowski P. Effect of dietary fat on pancreatic lipase activity in chicken. *Int J Vitam Nutr Res* 1976; 46 (1): 83-86.
- Duan RD, Williams JA. Cholecystokinin rapidly activates mitogen-activated protein kinase in rat pancreatic acini. *Am J Physiol* 1994; 267 (3 Pt 1): G401-408.
- Dubick MA, Hunter GC, Perez-Lizano E, Mar G, Geokas MC. Assessment of the role of pancreatic proteases in human abdominal aortic aneurysms and occlusive disease. *Clin Chim Acta* 1988; 177 (1): 1-10.
- Dubois C, Beaumier G, Juhel C, Armand M, Portugal H, Pauli AM, Borel P, Latge C, Lairon D. Effects of graded amounts (0-50 g) of dietary fat on postprandial lipemia and lipoproteins in normolipidemic adults. *Am J Clin Nutr* 1998; 67 (1): 31-38.

- Dubois M, Croset M, Nemoz G, Lagarde M, Prigent AF. Modulation of cyclic nucleotide phosphodiesterase by dietary fats in rat heart. *Lipids* 1992; 27 (10): 746-754.
- Dudley MA, Wang H, Hachey DL, Shulman RJ, Perkinson JS, Rosenberger J, Mersmann HJ. Jejunal brush border hydrolase activity is higher in tallow-fed pigs than in corn oil-fed pigs. *J Nutr* 1994; 124 (10): 1996-2005.
- Dugas TR, Morel DW, Harrison EH. Impact of LDL carotenoid and alpha-tocopherol content on LDL oxidation by endothelial cells in culture. *J Lipid Res* 1998; 39 (5): 999-1007.
- Dutta SK, Hlasko J. Dietary fiber in pancreatic disease: effect of high fiber diet on fat malabsorption in pancreatic insufficiency and in vitro study of the interaction of dietary fiber with pancreatic enzymes. *Am J Clin Nutr* 1985; 41 (3): 517-525.
- Ebong PE, Owu DU, Isong EU. Influence of palm oil (*Elaeis guineensis*) on health. *Plan Foods for Human Nutrition* 1999; 53 (3): 209-222, 65 ref.
- Eddy AA. Interstitial inflammation and fibrosis in rats with diet-induced hypercholesterolemia. *Kidney Int* 1996; 50 (4): 1139-1149.
- Eder K, Kirchgessner M. The effect of zinc deficiency on erythrocyte membrane lipids of force-fed rats receiving a diet containing coconut oil or fish oil. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1994; 8 (2): 63-73.
- Ederveen AG, van Emst-de Vries SE, De Pont JJ, Willems PH. The diacylglycerol kinase inhibitor, R59022, potentiates cholecystokinin-induced enzyme secretion from rabbit pancreatic acini. *Eur J Biochem* 1990; 188 (2): 333-338.
- Ekelund K, Johansson C. Output of bilirubin and pancreatic enzymes in response to different liquid test meals in man. *Scand J Gastroenterol* 1975; 10 (5): 507-511.
- El-Salhy M, Wilander E, Grimelius L, Terenius L, Lundberg JM, Tatemoto K. The distribution of polypeptide YY (PYY) - and pancreatic polypeptide (PP) - immunoreactive cells in the domestic fowl. *Histochemistry* 1982; 75 (1): 25-30.
- Emde C, Liehr RM, Gregor M, Pleul O, Riecken EO, Menge H. Lack of adaptative changes in human pancreatic amylase and lipase secretion in response to high-carbohydrate, low-fat diet applied by a 10-day continuous intraduodenal infusion. *Dig Dis Sci* 1985; 30 (3): 204-210.
- Engelhard VH, Esko JD, Storm DR, Glaser M. Modification of adenylate cyclase activity in LM cells by manipulation of the membrane phospholipid composition in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1976; 73 (12): 4482-4486.
- Eritsland J, Arnesen H, Berg K, Seljeflot I, Abdelnoor M. Serum Lp(a) lipoprotein levels in patients with coronary artery disease and the influence of long-term n-3 fatty acid supplementation. *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 55 (4): 295-300.
- Erlanson-Albertsson C. The interaction between pancreatic lipase and colipase: a protein-protein interaction regulated by a lipid. *FEBS Lett* 1983; 162 (2): 225-229.
- Erlanson-Albertsson, C., Larsson, A., Duan, R. Secretion of pancreatic lipase and colipase from rat pancreas. *Pancreas* 1987; 2 (5): 531-535.
- Ermak TH, Rothman SS. Zymogen granules of pancreas decrease in size in response to feeding. *Cell Tissue Res* 1981; 214 (1): 51-66.
- Escuredo A, Montilla JC, García JM, Sánchez-Quevedo MC, Periago JL, Hortelano P, Suárez MD. Effect of dietary (n-9), (n-6) and (n-3) fatty acids on membrane lipid composition and morphology of rat erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1394 (1): 65-73.
- Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Striegl G, Waeg G. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low-density lipoprotein. *Am J Clin Nutr* 1991; 53 (1 Suppl): 314S-321S.

- Fahrenkrug J, Ottesen B. Nervous release of vasoactive intestinal polypeptide from the feline uterus: pharmacological characteristics. *J Physiol* 1982; 331: 451-460.
- Fahrenkrug J, Schaffalitzky de Muckadell OB, Holst JJ. Plasma secretin concentration in anaesthetized pigs after intraduodenal glucose, fat, aminoacids, or meals with various pH. *Scand J Gastroenterol* 1977; 12 (3): 273-279.
- Fahrenkrug J, Schaffalitzky de Muckadell OB, Rune SJ. pH threshold for release of secretin in normal subjects and in patients with duodenal ulcer and patients with chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1978; 13 (2): 177-186.
- Faichney A, Chey WY, Kim YC, Lee KY, Kim MS, Chang TM. Effect of sodium oleate on plasma secretin concentration and pancreatic secretion in dog. *Gastroenterology* 1981; 81 (3): 458-462.
- Falasco JD, Smith GP, Gibbs J. Cholecystokinin suppresses sham feeding in the rhesus monkey. *Physiol Behav* 1979; 23 (5): 887-890.
- Farago A, Nishizuka Y. Protein kinase C in transmembrane signalling. *FEBS Lett* 1990; 268 (2): 350-354.
- Farooqui AA, Farooqui T, Yates AJ, Horrocks LA. Regulation of protein kinase C activity by various lipids. *Neurochem Res* 1988; 13 (6): 499-511.
- Felber J P, Zermatten A, Dick J. Modulation by food of hormonal system regulating rat pancreatic secretion. *Lancet* 1974; 2: 185-188.
- Feldstein A, Krier JD, Sarafov MH, Lerman A, Best PJ, Wilson SH, Lerman LO. In vivo renal vascular and tubular function in experimental hypercholesterolemia. *Hypertension* 1999; 34 (4 Pt 2): 859-864.
- Ferezou J, Riottot M, Serougne C, Cohen-Solal C, Catala I, Alquier C, Parquet M, Juste C, Lafont H, Mathe D, Corring T, Lutton C. Hypocholesterolemic action of beta-cyclodextrin and its effects on cholesterol metabolism in pigs fed a cholesterol-enriched diet. *J Lipid Res* 1997; 38 (1): 86-100.
- Fernández G., Troyer, D.A., Jolly, C.A. The effects of dietary lipids on gene expression and apoptosis. *Proc Nutr Soc* 1998; 57 (4): 543-550.
- Fernández G., Venkatraman, J., Khare, A., Horbach, G.J., Friedrichs, W. Modulation of gene expression in autoimmune disease and aging by food restriction and dietary lipids. *Proc Soc Exp Biol Med* 1990; 193 (1): 16-22.
- Fernández ML, McNamara DJ. Regulation of cholesterol and lipoprotein metabolism in guinea pigs mediated by dietary fat quality and quantity. *J Nutr* 1991; 121: 934-943.
- Fernández ML, Conde AK, Ruiz LR, Montano C, Ebner J, McNamara DJ. Carbohydrate type and amount alter intravascular processing and catabolism of plasma lipoproteins in guinea pigs. *Lipids* 1995; 30 (7): 619-626.
- Fernández ML, Lin EC, McNamara DJ. Regulation of guinea pig plasma low density lipoprotein kinetics by dietary fat saturation. *J Lipid Res* 1992; 33 (1): 97-109.
- Fernández ML, Wilson TA, Conde K, Vergara-Jimenez M, Nicolosi RJ. Hamsters and guinea pigs differ in their plasma lipoprotein cholesterol distribution when fed diets varying in animal protein, soluble fiber, or cholesterol content. *J Nutr* 1999; 129 (7): 1323-1332.
- Fernández ML, Yount NY, McNamara DJ. Whole body and hepatic cholesterol synthesis rates in the guinea-pig: effect of dietary fat quality. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1044 (3): 340-348.
- Fernstrom J.D. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on neuronal function. *Lipids* 1999; 34 (2): 161-169.

- Field CJ, Ryan EA, Thomson AB, Clandinin MT. Diet fat composition alters membrane phospholipid composition, insulin binding, and glucose metabolism in adipocytes from control and diabetic animals. *J Biol Chem* 1990; 265 (19): 11143-11150.
- Filipponi P, Gregorio F, Ferrandina C, Nicoletti I, Mannarelli C, Pippi R, Santeusano F. Alpha-adrenergic system in the modulation of pancreatic A and B cell function in normal rats. *Diabetes Res Clin Pract* 1986; 2 (6): 325-336.
- Fink AS, Miller JC, Jehn DW, Meyer JH. Digests of protein augment acid-induced canine pancreatic secretion. *Am J Physiol* 1982; 242(6):G634-G641.
- Fischer GM, Swain ML, Cherian K. Increased vascular collagen and elastin synthesis in experimental atherosclerosis in the rabbit. Variation in synthesis among major vessels. *Atherosclerosis* 1980; 35 (1): 11-20.
- Fito M, Covas MI, Lamuela-Raventos RM, Vila J, de la Torre C, Marrugat J. Olive oil and inhibition of low density lipoprotein oxidation. Role of phenolic compounds. *Med Clin (Barc)* 2000; 115 (5): 166-169.
- Fito M, Covas MI, Lamuela-Raventos RM, Vila J, Torrents L, de la Torre C, Marrugat J. Protective effect of olive oil and its phenolic compounds against low density lipoprotein oxidation. *Lipids* 2000; 35 (6): 633-638.
- Fleckenstein-Grun G, Thimm F, Frey M, Matyas S. Progression and regression by verapamil of vitamin D3-induced calcific medial degeneration in coronary arteries of rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26 (2): 207-213.
- Fleischer S, McIntyre JO, Vidal JC. Large-scale preparation of rat liver mitochondria in high yield. *Methods Enzymol* 1979; 55:32-9.
- Fleischer S, McIntyre JO, Vidal JC. Large-scale preparation of rat liver mitochondria in high yield. *Methods in Enzymol* 1979; 55: 32-39.
- Flores CA, Branon PM, Bustamante SA, Bezerra J, Butler KT, Goda T, Koldovsky O. Effect of diet on intestinal and pancreatic enzyme activities in the pig. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988; 7 (6): 914-921.
- Foger B, Patsch JR. Hypertriglyceridemia. *Wien Med Wochenschr* 1994; 144 (12-13): 308-311.
- Fontham ET, Malcom GT, Singh VN, Ruiz B, Schmidt B, Correa P. Effect of beta-carotene supplementation on serum alpha-tocopherol concentration. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; 4 (7): 801-803.
- Forones NM, Falcao JB, Mattos D, Barone B. Cholesterolemia in colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 1998; 45 (23): 1531-1534.
- Francis GA, Perry RJ. Targeting HDL-mediated cellular cholesterol efflux for the treatment and prevention of atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 1999; 286 (1-2): 219-230.
- Francis LP, Camello PJ, Singh J, Salido GM, Madrid JA. Effects of phorbol ester on cholecystokinin octapeptide-evoked exocrine pancreatic secretion in the rat. *J Physiol* 1990; 431: 27-37.
- Frank B. and Gottlieb K. Amylase normal, lipase elevated: is it pancreatitis? A case series and review of the literature. *Am J Gastroenterol* 1999; 94 (2): 463-469. Comment in: *Am J Gastroenterol* 2000; 95 (3): 823-824.
- Freedman SD, Scheele GA. Acid-base interactions during exocrine pancreatic secretion. Primary role for ductal bicarbonate in acinar lumen function. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 713:199-206.
- Frei B. On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222 (3): 196-204.

- Freiburghaus AU, Redha F, Ammann RW. Does acute pancreatitis progress to chronic pancreatitis? A microvascular pancreatitis model in the rat. *Pancreas* 1995; 11 (4): 374-381.
- Freiman PC, Mitchell GG, Heistad DD, Armstrong ML, Harrison DG. Atherosclerosis impairs endothelium-dependent vascular relaxation to acetylcholine and thrombin in primates. *Circ Res* 1986; 58 (6): 783-789.
- French MA, Parrott AM, Kielo ES, Rajotte RV, Wang LC, Thomson AB, Clandinin MT. Polyunsaturated fat in the diet may improve intestinal function in patients with Crohn's disease. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1360 (3): 262-270.
- Fried GM, Ogden WD, Rhea A, Greeley G, Thompson JC. Pancreatic protein secretion and gastrointestinal hormone release in response to parenteral amino acids and lipid in dogs. *Surgery* 1982; 92(5): 902-905.
- Fried M, Beglinger C, Koehler E, Whitehouse I, Varga L, Gyr K. Effect of proglumide, a cholecystokinin receptor antagonist, on caerulein-stimulated pancreatic enzyme secretion and pancreatic polypeptide release in the dog. *Regul Pept* 1984; 8 (2): 117-122.
- Fuhrman B, Elis A, Aviram M. Hypocholesterolemic effect of lycopene and beta-carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 233 (3): 658-662.
- Fuhrmann H, Sallmann HP. Phospholipid fatty acids of brain and liver are modified by alpha-tocopherol and dietary fat in growing chicks. *Br J Nutr* 1996; 76 (1): 109-122.
- Fujimiya M, Inui A. Peptidergic regulation of gastrointestinal motility in rodents. *Peptides* 2000; 21(10):1565-1582.
- Funakoshi, A, Miyasaka K, Shinozaki H, Kitani K, Sugyyama N, Yajima H. Effects of human pancreatic polypeptide on exocrine pancreatic function in conscious rats. *Tohoku J Exp Med* 1988; 154 (1): 1-9.
- Furuse M. Release and endogenous actions of the gastrin/cholecystokinin (CCK) family in the chicken. *J Exp Zool* 1999; 283 (4-5): 448-454.
- Furuta Y, Iwatsuki K, Takeuchi O., Hashimoto K. Secretin-like activity of dopamine on canine pancreatic secretion. *Tohoku J Exp Med* 1972; 108: 353-360.
- Fushiki T, Iwai K. Two hypotheses on the feedback regulation of pancreatic enzyme secretion. *FASEB J* 1989; 3 (2): 121-126.
- Fyfe AI, Qiao JH, Lusic AJ. Immune-deficient mice develop typical atherosclerotic fatty streaks when fed an atherogenic diet. *J Clin Invest* 1994; 94 (6): 2516-2520.
- Gama R, Shah S, Wright J, Marks V. Hyperinsulinaemia of hypertriglyceridaemia: a reappraisal. *Diabet Med* 1995; 12 (4): 321-324.
- Gang N, Langevitz P, Livneh A. Relapsing acute pancreatitis induced by re-exposure to the cholesterol lowering agent bezafibrate. *Am J Gastroenterol* 1999; 94 (12): 3626-3628.
- García Zevallos, M. and Farkas, T. Manipulation of plasma membrane physical state affects desaturase activity in rat lymphocytes. *Arch Biochem Biophys* 1989; 271 (2): 546-552.
- Gardner JD, Jackson MJ. Regulation of amylase release from dispersed pancreatic acinar cells. *J Physiol* 1977; 270 (2): 439-454.
- Gardner JD, Jensen RT. Characterization of receptors for gastrointestinal peptides. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1983; 82: 7-18.
- Garg ML. and Sabine JR. Homeostatic control of membrane cholesterol and fatty acid metabolism in the rat liver. *Biochem J* 1988; 251 (1): 11-16.

- Garg ML, Thomson AB, Clandinin MT. Hypotriglyceridemic effect of dietary n-3 fatty acids in rats fed low versus high levels of linoleic acid. *Biochim Biophys Acta* 1989; 1006 (1): 127-130.
- Garg ML, Thomson AB, Clandinin MT. Interactions of saturated, n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids to modulate arachidonic acid metabolism. *J Lipid Res* 1990; 31: 271-277.
- Garg ML, Wierzbicki AA, Thomson AB, Clandinin MT. Fish oil reduces cholesterol and arachidonic acid content more efficiently in rats fed diets containing low linoleic acid to saturated fatty acid ratios. *Biochim Biophys Acta* 1988; 962 (3): 337-344.
- Garrido JA, Garces C, de Oya M. Diet and atherosclerosis. *Rev Esp Cardiol* 1998; 51 Suppl 6: 36-44.
- Garry PJ, Hunt WC, Koehler KM, VanderJagt DJ, Vellas BJ. Longitudinal study of dietary intakes and plasma lipids in healthy elderly men and women. *Am J Clin Nutr* 1992; 55 (3): 682-688.
- Gasser KW, Holda JR. The effect of phospholipase A2 on chloride transport by pancreatic secretory granules. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1194 (1): 123-130.
- Gauvreau J, Grondin G, Matton P, Beaudoin AR. Histochemical and immunocytochemical characterizations of laminated bodies in the pancreas acinar lumen. *Int J Pancreatol* 1992; 12 (2): 109-119.
- Gavino VC, Gavino G, Leblanc MJ, Tuchweber B. An isomeric mixture of conjugated linoleic acids but not pure cis-9, trans-11-octadecadienoic acid affects body weight gain and plasma lipids in hamsters. *J Nutr* 2000; 130 (1): 27-29, 20 ref.
- German JB, Lokesh B, Kinsella JE. The effect of dietary fish oils on eicosanoid biosynthesis in peritoneal macrophages is influenced by both dietary N-6 polyunsaturated fats and total dietary fat. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1988; 34 (1): 37-45.
- Gestin M, Le Huërou-Luron I, Le Dréan G, Romé V, Aumaitre A, Guilloteau P. Diets modifies elastase I and II activities and mRNA levels during postnatal development and weaning in piglets. *J Nutr* 1997; 127: 2205-2211.
- Geurian K, Pinson JB, Weart CW. The triglyceride connection in atherosclerosis. *Ann Pharmacother* 1992; 26 (9): 1109-1117.
- Gibson RA, McMurchie EJ, Charnock JS, Kneebone GM. Homeostatic control of membrane fatty acid composition in the rat after dietary lipid treatment. *Lipids* 1984; 19 (12): 942-951.
- Gidez LI. Effect of dietary fat on pancreatic lipase levels in the rat. *J Lipid Res* 1973; 14: 169-177.
- Gillies P, Robinson C. Decreased plasma membrane fluidity in the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 1988; 70 (1-2): 161-164.
- Gillis AM, Keashly R, Watson PA, Mathison HJ, Parsons HG. Influence of dietary fat on the pharmacodynamics of propafenone in isolated, perfused rabbit hearts. *Circulation* 1992; 85: 1501-1509.
- Gil-Villarino A, Torres MI, Zafra MF, García-Peregrin E. Supplementation of coconut oil from different sources to the diet induces cellular damage and rapid changes in fatty acid composition of chick liver and hepatic mitochondria. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1997; 117 (3): 243-250.
- Gimpl G, Burger K, Fahrenholz F. Cholesterol as modulator of receptor function. *Biochemistry* 1997; 36(36):10959-10974.



- Ginzinger DG, Wilson JE, Redenbach D, Lewis ME, Clee SM, Excoffon KJ, Rogers QR, Hayden MR, McManus BM. Diet-induced atherosclerosis in the domestic cat. *Lab Invest* 1997; 77 (5): 409-419.
- Giorgi D, Renaud W, Bernard JP, Dagorn JC. Regulation of proteolytic enzyme activities and mRNA concentrations in rat pancreas by food content. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 127 (3): 937-942.
- Giorgi D, Bernard JP, Lapointe R, Dagorn JC. Regulation of amylase messenger RNA concentration in the pancreas by food content. *EMBO J* 1984; 3 (7): 1521-1524.
- Girard J. Fatty acids and beta cells. *Diabetes Metab* 2000; 26 Suppl 3: 6-9.
- Girard-Globa A, Bourdel G. Pancreatic hydrolases in cold-induced hyperphagia of rats fed a low or high-fat diet. *Reprod Nutr Dev* 1983; 23 (1): 137-143.
- Giron MD, Lara A, Suarez MD. Short-term effects of dietary fats on the lipid composition and desaturase activities of rat liver microsomes. *Biochem Mol Biol Int* 1996; 40(4):843-51.
- Giron MD, Mataix FJ, Faus MJ, Suarez MD. Effect of long-term feeding olive and sunflower oils on fatty acid composition and desaturation activities of liver microsomes. *Biochem Int* 1989; 19 (3): 645-656.
- Giron MD, Criado MD, Lara A, Suarez MD. The short-term effect of dietary fats on the brain fatty acid composition in rats. *Arch Physiol Biochem* 1995; 103 (1): 123-126.
- Giron MD, Salto R, Hortelano P, Periago JL, Vargas AM, Suarez MD. Increased diaphragm expression of GLUT4 in control and streptozotocin-diabetic rats by fish oil-supplemented diets. *Lipids* 1999; 34 (8): 801-807.
- Glatz JF, Soffers AE, Katan MB. Fatty acid composition of serum cholesteryl esters and erythrocyte membranes as indicators of linoleic acid intake in man. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 269-276.
- Gleason MM, Medow MS, Tulenko TN. Excess membrane cholesterol alters calcium movements, cytosolic calcium levels, and membrane fluidity in arterial smooth muscle cells. *Circ Res* 1991; 69 (1): 216-217.
- Goda T, Takase S. Effect of dietary fat content on microvillus in rat jejunum. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1994; 40 (2): 127-136.
- Gomariz RP, Martinez C, Abad C, Leceta J, Delgado M. Immunology of VIP: a review and therapeutical perspectives. *Curr Pharm Des* 2001; 7(2):89-111.
- Gomez G, Lluís F, Guo YS, Greeley GH Jr, Townsend CM Jr, Thompson JC. Bile inhibits release of cholecystokinin and neurotensin. *Surgery* 1986; 100 (2): 363-368.
- Gomez G, Upp JR Jr, Lluís F, Alexander RW, Poston GJ, Greeley GH Jr, Thompson JC. Regulation of the release of cholecystokinin by bile salts in dogs and humans. *Gastroenterology* 1988; 94 (4): 1036-1046.
- Gonez KK, Rothman SS. Atrans-membrane pore can account for protein movement across zymogen granule membranes. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1238 (1): 91-93.
- González A, Pariente JA, Salido GM, Camello PJ. Intracellular pH and calcium signalling in rat pancreatic acinar cells. *Pflugers Arch* 1997; 434 (5): 609-614.
- González Y, Coelho AM, Patzina RA, Machado MA, Machado MC, Pinotti HW, Bettarello A. Influence of diet composition on the late course of acute pancreatitis. Experimental study in rats. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 1990; 45 (1): 3-9.
- Goodfellow J, Bellamy MF, Ramsey MW, Jones CJ, Lewis MJ. Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improve systemic large artery endothelial function in subjects with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35 (2): 265-270.

- Gordon MD, Markus MD, Kyle MD. Childhood Pancreatitis. *Am Fam Phys* 1999; 1: 1-8.
- Gorelick FS, Jamieson JD. Structure-function relationship of the pancreas. En: Johnson, L.R. *Physiology of the gastrointestinal tract*. Ed. New York, Raven Press 1987; 1089-1107.
- Goulet O, de Potter S, Antebi H, Driss F, Colomb V, Bereziat G, Alcindor LG, Corriol O, Le Brun A, Dutot G, Forget D, Perennec V, Ricour C. Long-term efficacy and safety of a new olive oil-based intravenous fat emulsion in pediatric patients: a double-blind randomized study. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (3): 338-345.
- Graber R, Sumida C, Nuñez EA. Fatty acids and cell signal transduction. *J Lipid Mediat Cell Signal* 1994; 9 (2): 91-116.
- Graf R, Valeri F, Gassmann R, Hailemariam S, Frick TW, Bimmler D. Adaptive response of the rat pancreas to dietary substrates: parallel regulation of trypsinogen and pancreatic secretory trypsin inhibitor. *Pancreas* 2000; 21 (2): 181-190.
- Grainger DJ, Kirschenlohr HL, Metcalfe JC, Weissberg PL, Wade DP, Lawn RM. Proliferation of human smooth muscle cells promoted by lipoprotein(a). *Science* 1993; 260 (5114): 1655-1658.
- Greeley GH Jr, Jeng YJ, Gomez G, Hashimoto T, Hill FL, Kern K, Kurosky T, Chuo HF, Thompson JC. Evidence for regulation of peptide-YY release by the proximal gut. *Endocrinology* 1989; 124 (3): 1438-1443.
- Green GM, Levan VH, Liddle RA. Plasma cholecystokinin and pancreatic growth during adaptation to dietary protein. *Am J Physiol* 1986; 251 (1 Pt 1): G70-G74.
- Green GM, Miyasaka K. Rat pancreatic response to intestinal infusion of intact and hydrolyzed protein. *Am J Physiol* 1983; 245 (3): G394-G398.
- Green GM, Nasset ES. Importance of bile in regulation of intraluminal proteolytic enzyme activities in the rat. *Gastroenterology* 1980; 79 (4): 695-702.
- Grendell JH, Rothman SS. Digestive end products mobilize secretory proteins from subcellular stores in the pancreas. *Am J Physiol* 1981; 241 (Gastrointest. Liver Physiol 4): 67-73.
- Grimaldi PA, Teboul L, Gaillard D, Armengod AV, Amri EZ. Long chain fatty acids as modulators of gene transcription in preadipose cells. *Mol Cell Biochem* 1999; 192 (1-2): 63-68.
- Gromada J, Ding WG, Barg S, Renstrom E, Rorsman P. Multisite regulation of insulin secretion by cAMP-increasing agonists: evidence that glucagon-like peptide 1 and glucagon act via distinct receptors. *Pflugers Arch* 1997; 434 (5): 515-524.
- Gromada J, Bokvist K, Ding WG, Barg S, Buschard K, Renstrom E, Rorsman P. Adrenaline stimulates glucagon secretion in pancreatic A-cells by increasing the Ca<sup>2+</sup> current and the number of granules close to the L-type Ca<sup>2+</sup> channels. *J Gen Physiol* 1997; 110 (3): 217-228.
- Gronda C, Rossi JP, Gagliardino JJ. Relationship between insulin secretion and rat islet plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase during short-term fasting. *Acta Physiol Pharmacol Latinoam* 1987; 37 (2): 245-256.
- Grone EF, Walli AK, Grone HJ, Miller B, Seidel D. The role of lipids in nephrosclerosis and glomerulosclerosis. *Atherosclerosis* 1994; 107 (1): 1-13.
- Grone HJ, Walli AK, Grone EF. Arterial hypertension and hyperlipidemia as determinants of glomerulosclerosis. *Clin Investig* 1993; 71 (10): 834-839.
- Grossman MI. Physiological effects of gastrointestinal hormones. *Fed Proc* 1977; 36 (7): 1930-1932.

- Grossman MI, Greengard H, Ivy AC. The effect of dietary composition on pancreatic enzymes. *Am J Physiol* 1943; 138: 676-682.
- Grundy SM. Effects of polyunsaturated fats on lipid metabolism in patients with hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1975; 55 (2): 269-282.
- Grundy SM. George Lyman Duff Memorial Lecture. Multifactorial etiology of hypercholesterolemia. Implications for prevention of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb* 1991; 11 (6): 1619-1635.
- Grundy SM. The optimal ratio of fat-to-carbohydrate in the diet. *Ann Rev Nutr* 1999; 19: 325-341.
- Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* 1986; 320 (6061): 454-456.
- Guimbaud R, Moreau JA, Bouisson M, Durand S, Escourrou J, Vaysse N, Frexinos J. Intraduodenal free fatty acids rather than triglycerides are responsible for the release of CCK in humans. *Pancreas* 1997; 14 (1): 76-82.
- Guize L, Benetos A, Thomas F, Malmejac A, Ducimetiere P. Cholesterolemia and total, cardiovascular and cancer mortality. Study of a cohort of 220,000 people. *Bull Acad Natl Med* 1998; 182 (3): 631-647; discussion 647-650.
- Gullo L, Priori P, Costa PL, Mattioli G, Labo G. Action of secretin on pancreatic enzyme secretion in man. Studies on pure pancreatic juice. *Gut* 1984; 25 (8): 867-873.
- Gupta R, Jaswal VM, Mahmood A. Effect of high-fat diet on mice intestinal brush border membrane composition. *Indian J Exp Biol* 1993; 31 (6): 536-539.
- Gurr MI. Dietary n-6/n-3 polyunsaturates balance: is it important? *Lipid Technology* 1998; 10 (1): 14-16.
- Gutierrez AM, Reboredo GR, Arcemis CJ, Catala A. Non-enzymatic lipid peroxidation of microsomes and mitochondria isolated from liver and heart of pigeon and rat. *Int J Biochem Cell Biol* 2000; 32 (1): 73-79.
- Guyton AC. *Tratado de Fisiología Médica*. Ed. Interamericana Mc Graw-Hill 1992.
- Gylling H, Puska P, Vartiainen E, Miettinen TA. Retinol, vitamin D, carotenes and alpha-tocopherol in serum of a moderately hypercholesterolemic population consuming sitostanol ester margarine. *Atherosclerosis* 1999; 145 (2): 279-285.
- Haag M, Vermeulen F, Magada O, Kruger MC. Polyunsaturated fatty acids inhibit Mg<sup>2+</sup>-ATPase in basolateral membranes from rat enterocytes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1999; 61 (1): 25-27.
- Haarstad H, Petersen H. Interaction between secretin and a cholecystokinin-like peptide on pancreatic protein secretion and synthesis in the rat. *Pancreas* 1988; 3 (5): 543-550.
- Haberich FJ, Bozkurt T. Physiological studies of exocrine pancreatic secretion in conscious rats. 6<sup>th</sup> communication: steady-state adaptation different food composition. *Z Gastroenterol* 1984; 22 (5): 259-267.
- Hacki WH. Secretin. *Clin Gastroenterol* 1980; 9: 609-632.
- Haglund O, Mehta JL, Saldeen T. Effects of fish oil on some parameters of fibrinolysis and lipoprotein(a) in healthy subjects. *Am J Cardiol* 1994; 74 (2): 189-192.
- Hagve TA, Woldseth B, Brox J, Narce M, Poisson JP. Membrane fluidity and fatty acid metabolism in kidney cells from rats fed purified eicosapentaenoic acid or purified docosahexaenoic acid. *Scand J Clin Lab Invest* 1998; 58 (3): 187-194.

- Hajri T, Khosla P, Pronczuk A, Hayes KC. Myristic acid-rich fat raises plasma LDL by stimulating LDL production without affecting fractional clearance in gerbils fed a cholesterol-free diet. *J Nutr* 1998 ; 128 (3): 477-484.
- Halevy O, Sklan D. Inhibition of arachidonic acid oxidation by beta-carotene, retinol and alpha-tocopherol. *Biochim Biophys Acta* 1987; 918 (3): 304-307.
- Hallenbeck GA. Biliary and pancreatic intraductal pressures. En: *Handbook of Physiology Alimentary Canal*. Code, C.F. (Ed.), Am. Physiol. Soc, Washington, D.C., 6 (2): 1007-1025.
- Hallikainen MA, Sarkkinen ES, Uusitupa MI. Plant stanol esters affect serum cholesterol concentrations of hypercholesterolemic men and women in a dose-dependent manner. *J Nutr* 2000; 130 (4): 767-776.
- Hallikainen MA, Uusitupa MI. Effects of 2 low-fat stanol ester-containing margarines on serum cholesterol concentrations as part of a low-fat diet in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr* 1999; 69 (3): 403-410.
- Han SY, Cho SH, Kim SY, Seo JT, Moon SJ, Jhon GJ. Monoacyldiglycerides as new Ca<sup>2+</sup> mobilizing agents in rat pancreatic acinar cells. *Bioorg Med Chem Lett* 1999; 9 (1): 59-64.
- Hannah JS, Yamane K, Berlin E, Howard BV. In vitro regulation of low-density lipoprotein receptor interaction by fatty acids. *Metabolism* 1995; 44 (11): 1428-1434.
- Hannah JS, Yamane K, Kataoka S, Anthony M, Howard BV. High fat, high cholesterol diets alter low density lipoprotein size and binding affinity in monkeys. *Atherosclerosis* 1997; 132 (1): 19-27.
- Hansen WE. Effect of dietary fiber on pancreatic lipase activity in vitro. *Pancreas* 1987; 2 (2): 195-198.
- Hanssen LE, Karesen R, Aune S. The effect of glucose on plasma immunoreactive secretin in normal man and after gastrectomy or pancreatectomy. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15 (4): 471-479.
- Hanssen LE, Hanssen KF, Myren J. Inhibition of secretin release and pancreatic bicarbonate secretion by somatostatin infusion in man. *Scand J Gastroenterol* 1977; 12: 391-394.
- Hansson GK, Jonasson L, Seifert PS, Stemme S. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1989; 9 (5): 567-578.
- Hara H, Narakino H, Kiriya S, Kasai T. Induction of pancreatic growth and proteases by feeding a high amino acid diet does not depend on cholecystokinin in rats. *J Nutr* 1995; 125: 1143-1149.
- Hara H, Ochi Y, Kasai T. Bile-pancreatic juice-independent increases in pancreatic proteases and intestinal cholecystokinin by dietary protein in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 217 (2): 173-179.
- Hara H, Ohyama S, Hira T. Luminal dietary protein, not amino acids, induces pancreatic protease via CCK in pancreaticobiliary-diverted rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 278 (6): G937-G945.
- Harada E, Niiyama M, Syuto B. Comparison of pancreatic exocrine secretion via endogenous secretin by intestinal infusion of hydrochloric acid and monocarboxylic acid in anesthetized piglets. *Jpn J Physiol* 1986; 36 (5): 843-856.
- Harada E, Syuto B. Biliary and pancreatic exocrine secretions via endogenous secretin by intestinal infusion of propionate and propionate analogues in piglets. *Comp Biochem Physiol A* 1988; 90 (2): 329-335.

- Hariharan K, Raina PL. Effect of high fat diets with and without cholesterol on erythrocyte and tissue fatty acids in rats. *Nahrung* 1996; 40 (6): 325-330.
- Harmon DL. Impact of nutrition on pancreatic exocrine and endocrine secretion in ruminants: a review. *J Anim Sci* 1992; 70 (4): 1290-1301.
- Hashimoto K, Oguro K, Furuta Y. Species difference in the secretory response to dopamine in the pancreas of dogs, cats, rabbits and rats. *Arch Histol Jpn* 1977; 40: 129-132.
- Hattori M, Nikolic-Paterson DJ, Miyazaki K, Isbel NM, Lan HY, Atkins RC, Kawaguchi H, Ito K. Mechanisms of glomerular macrophage infiltration in lipid-induced renal injury. *Kidney Int Suppl* 1999; 71: S47-S50.
- Hauser H, Dyer JH, Nandy A, Vega MA, Werder M, Bieliauskaite E, Weber FE, Compassi S, Gemperli A, Boffelli D, Wehrli E, Schulthess G, Phillips MC. Identification of a receptor mediating absorption of dietary cholesterol in the intestine. *Biochemistry* 1998; 37 (51): 17843-17850.
- Havel RJ. Origin, metabolic fate and metabolic function of plasma lipoproteins. En: Steinberg D, Olefsky MJ. eds. *Hypercholesterolemia and atherosclerosis: Pathogenesis and prevention*. New York: Churchill Livingstone, 1987; 17.
- Havinga JR, Strous GJ, Poort C. Intracellular transport of the major glycoprotein of zymogen granule membranes in the rat pancreas. Demonstration of high turnover at the plasma membranes. *Eur J Biochem* 1984; 144 (1): 177-183.
- Hayashi H, Matsuoka Y, Skamoto I, Sueyoshi E, Okimoto T, Hayashi K, Matsunaga N. Penetrating atherosclerotic ulcer of the aorta: imaging features and disease concept. *Radiographics* 2000; 20 (4): 995-1005.
- Hayes KC. Saturated fats and blood lipids: new slant on an old story. *Can J Cardiol* 1995; 11 Suppl G: 39G-G46.
- Hebel R, Stromberg MW. Digestive system. En: *Anatomy of the laboratory rat*. Eds: Williams and Wilkins. Baltimore 1976; 43-52.
- Heinemann T, Leiss O, von Bergmann K. Effect of low-dose sitostanol on serum cholesterol in patients with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1986; 61 (3): 219-223.
- Heintges T, Luthen R, Niederau C. Inhibition of exocrine pancreatic secretion by somatostatin and its analogues. *Digestion* 1994; 55 Suppl 1: 1-9.
- Hendrick JA, Tadokoro T, Emenhiser C, Nienaber U, Fennema OR. Various dietary fibers have different effects on lipase-catalyzed hydrolysis of tributyrin in vitro. *J Nutr* 1992; 122 (2): 269-277.
- Herrmann W, Biermann J, Kostner GM. Comparison of effects of N-3 to N-6 fatty acids on serum level of lipoprotein(a) in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1995; 76 (7): 459-462.
- Hess RS, Saunders HM, van Winkle TJ, Shofer FS, Washabau RJ. Clinical, clinicopathologic, radiographic and ultrasonographic abnormalities in dogs with fatal acute pancreatitis: 70 cases (1986-1995). *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213 (5): 665-670.
- Hickson JC. The secretion of pancreatic juice in response to stimulation of the vagus nerves in the pig. *J Physiol* 1970; 206(2):275-297.
- Hickson JCD. The secretion of pancreatic juice in response to stimulation of the vagus nerves in the pig. *J Physiol* 1970; 206: 299-322.
- Hiramatsu K, Oshima K. Immunocytochemical study on the innervation of the chicken pancreas by vasoactive intestinal polypeptide (VIP) containing nerves. *Histol Histopathol* 1997; 12 (4): 961-965.

- Hirano T, Manabe T, Printz H, Saluja A, Steer M. Secretion of lysosomal and digestive enzymes into pancreatic juice under physiological and pathological conditions in rabbits. *Nippon Geka Hokan* 1992; 61 (2): 103-124.
- Hirose H, Maruyama H, Ito K, Kido K, Koyama K, Saruta T. Effects of alpha-2 and beta-adrenergic agonism on glucagon secretion from perfused pancreata of normal and streptozocin-induced diabetic rats. *Metabolism* 1993; 42 (8): 1072-1076.
- Hirose H, Maruyama H, Ito K, Koyama K, Kido K, Saruta T. Glucose-induced insulin secretion and alpha 2-adrenergic receptor subtypes. *J Lab Clin Med* 1993; 121 (1): 32-37.
- Hirschi KK, Sabb JE, Brannon PM. Effects of diet and ketones on rat pancreatic lipase in cultured acinar cells. *J Nutr* 1991; 121 (7): 1129-1134.
- Hjelte L, Ahren B, Andrén-Sandberg A, Böttcher G, Strandvik B. Pancreatic function in the essential fatty acid deficient rat. *Metabolism* 1990; 39 (8): 871-875.
- Hochgraf E, Mokady S, Cogan U. Dietary oxidized linoleic acid modifies lipid composition of rat liver microsomes and increases their fluidity. *J Nutr* 1997; 127 (5): 681-686.
- Hokin LE, Dixon JF. Evidence for direct phosphodiesteratic cleavage of phosphatidylinositol in pancreatic minilobules stimulated with carbachol. *Adv Second Messenger Phosphoprotein Res* 1990; 24: 140-146.
- Holmer G, Hoy CE, Kirstein D. Influence of partially hydrogenated vegetable and marine oils on lipid metabolism in rat liver and heart. *Lipids* 1982; 17 (9): 585-593.
- Holynski J, Modzelewski B, Ciesielski L. Lipid metabolism disorders in acute pancreatitis. *Pol Merkuriusz Lek* 2000; 8 (48): 399-401.
- Honczarenko K, Torbus-Lisiecka B, Osuch Z, Nocon D, Nowacki P, Potemkowski A, Narolewska A. Fibrinogen and lipids: associated risk factors for ischemic cerebral stroke. *Neurol Neurochir Pol* 1999; 33 (3): 557-565.
- Hootman SR, Williams AJ. Stimulus-secretion coupling in the pancreatic acinus. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 2<sup>a</sup> ed. Ed: Johnson. Raven Press. New York 1987; 1129-1146.
- Hopman WP, Jansen JB, Rosenbusch G, Lamers CB. Effect of equimolar amounts of long-chain triglycerides and medium-chain triglycerides on plasma cholecystokinin and gallbladder contraction. *Am J Clin Nutr* 1984; 39 (3): 356-359.
- Hopwood D, Ross PE. Biochemical and morphological correlations in human gallbladder with reference to membrane permeability. *Microsc Res Tech* 1997; 38 (6): 631-642.
- Hosotani R, Inoue K, Kogire M, Tatemoto K, Mutt V, Suzuki T, Rayford PL, Tobe T. Effect of natural peptide YY on pancreatic secretion and cholecystokinin release in conscious dogs. *Dig Dis Sci* 1989; 34 (3): 468-473.
- Houghton MR, Morgan RG, Gracey M. Effects of long term dietary modifications on pancreatic enzyme activity. *J Ped Gastroenterology Nutr* 1983; 2: 548-554.
- Houpe KL, Malo C, Buddington RK. Dietary lipid and intestinal brush border membrane phospholipid fatty acid composition and glucose transport of channel catfish. *Physiol Zool* 1997; 70 (2): 230-236.
- Howard BV, Hannah JS, Heiser CC, Jablonski KA. Effects of sex and ethnicity on responses to a low-fat diet: a study of African Americans and whites. *Am J Clin Nutr* 1995; 62 (2): 488S-S492.
- Howard BV, Hannah JS, Heiser CC, Jablonski KA, Paidi MC, Alarif L, Robbins DC, Howard WJ. Polyunsaturated fatty acids result in greater cholesterol lowering and less

- triacylglycerol elevation than to monounsaturated fatty acids in a dose-response comparison in a multiracial study group. *Am J Clin Nutr* 1995; 62 (2): 392-402.
- Hsiao S, Spencer R. Analysis of licking responses in rats: effects of cholecystokinin and bombesin. *Behav Neurosci* 1983; 97 (2): 234-245.
- Huertas JR, Martínez-Victoria E, Mañas M, Ballesta MC, Blanco N, Matáix FJ. Postprandial modifications of plasma secretin levels during pancreatic secretion in dogs. *Arch Int Physiol Biochim Biophys* 1991; 99 (4): 339-343.
- Hunt CE, Duncan LA. Hyperlipoproteinaemia and atherosclerosis in rabbits fed low-level cholesterol and lecithin. *Br J Exp Pathol* 1985; 66 (1): 35-46.
- Hwang D. Fatty acids and immune responses-a new perspective in searching for clues to mechanism. *Annu Rev Nutr* 2000; 20: 431-456.
- Hwang D, Rhee SH. Receptor-mediated signaling pathways: potential targets of modulation by dietary fatty acids. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (4): 545-556.
- Hwang DH, Chanmugam PS, Ryan DH, Boudreau MD, Windhauser MM, Tulley RT, Brooks ER, Bray GA. Does vegetable oil attenuate the beneficial effects of fish oil in reducing risk factors for cardiovascular disease? *Am J Clin Nutr* 1997; 66 (1): 89-96.
- Ibrahim JB, McNamara DJ. Cholesterol homeostasis in guinea pigs fed saturated and polyunsaturated fat diets. *Biochim Biophys Acta* 1988; 963 (1): 1109-1118.
- Ibrahim SA, Balasubramanian KA. Modulation of monkey small intestinal brush border membrane D-glucose transport by nonesterified fatty acids. *Indian J Biochem Biophys* 1993; 30 (3): 172-176.
- Iezuitova NN, Mitiushova NM, Tsvetkova VA. Enzymatic adaptation of the pancreas and small intestine to food composition. *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova* 1983; 69 (10): 1338-1344.
- Ikemoto S, Takahashi M, Tsunoda N, Maruyama K, Itakura H, Ezaki O. High-fat diet-induced hyperglycemia and obesity in mice: differential effects of dietary oils. *Metabolism* 1996; 45 (12): 1539-1546.
- Imamura M, Lee KY, Song Y, Moriyasu M, Chang TM, Chey WY. Role of secretin in negative feedback regulation of postprandial pancreatic secretion in dogs. *Gastroenterology* 1993; 105 (2): 548-553.
- Incardona JP, Eaton S. Cholesterol in signal transduction. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12 (2): 193-203.
- Innis SM. Effect of total parenteral nutrition with linoleic acid-rich emulsions on tissue omega 6 and omega 3 fatty acids in the rat. *Lipids* 1986; 21 (2): 132-138.
- Irizar A, Ioannides C. Marked inhibition of hepatic cytochrome P450 activity in cholesterol-induced atherosclerosis in rabbits. *Toxicology* 1998; 126 (3): 179-193.
- Isaacs PE, Ladas S, Forgacs IC, Dowling RH, Ellam SV, Adrian TE, Bloom SR. Comparison of effects of ingested medium-and long-chain triglyceride on gallbladder volume and release of cholecystokinin and other gut peptides. *Dig Dis Sci* 1987; 32 (5): 481-486.
- Isaksson G, Lundquist I, Ihse I. In vitro inhibition of pancreatic enzyme activities by dietary fiber. *Digestion* 1982; 24 (1): 54-59.
- Ismail MF, Gad MZ, Hamdy MA. Study of the hypolipidemic properties of pectin, garlic and ginseng in hypercholesterolemic rabbits. *Pharmacol Res* 1999; 39 (2): 157-166.
- Isobe M, Ogita Z. Electrophoretic analysis of pancreatic proteases and zymogen-activating factors in the mouse. *J Exp Zool* 1984; 230 (3): 347-354.

- Jacobs LR. Effect of short-term dietary fat on cell growth in rat gastrointestinal mucosa and pancreas. *Am J Clin Nutr* 1983; 37 (3): 361-367.
- Jahreis G, Hesse V. Vitamin D-induced tissue calcinosis and arteriosclerosis changes. I: A contribution to the 60 year history of vitamin D research with special reference to childhood. *Padiatr Grenzgeb* 1990; 29 (3): 203-211.
- Jakob S, Zabielski R, Mosenthin R, Valverde Piedra JL, Evilevitch L, Kuria M, Rippe C, Sorhede Winzell M, Pierzynowski SG. Influence of intraduodenally infused olive and coconut oil on postprandial exocrine pancreatic secretions of growing pigs. *J Anim Sci* 2001; 79 (2): 477-485.
- Jakob S, Mosenthin R, Thaela MJ, Westrom BR, Rehfeld JF, Olsen O, Karlsson S, Ahren B, Ohlsson A, Karlsson BW, Pierzynowski SG. The influence of potato fibre on exocrine pancreatic secretions and on plasma levels of insulin, secretin and cholecystokinin in growing pigs. *Arch Tierernahr* 2000; 53 (3): 273-291.
- Jakob S, Mosenthin R, Zabielski R, Rippe C, Winzel, MS, Gacsalyi U, Laubitz D, Grzesiuk E, Pierzynowski SG. Fats infused intraduodenally affect the postprandial secretion of the exocrine pancreas and the plasma concentration of cholecystokinin but not of peptide YY in growing pigs. *J Nutr* 2000; 130 (10): 2450-2455.
- Jaworek J, Konturek SJ. Distribution, release, and secretory activity of epidermal growth factor in the pancreas. *Int J Pancreatol* 1990; 6 (3): 189-205.
- Jayakody RL, Senaratne MP, Thomson AB, Kappagoda CT. Cholesterol feeding impairs endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta. *Can J Physiol Pharmacol* 1985; 63 (9): 1206-1209.
- Jena BP, Padfield PJ, Ingebritsen TS, Jamieson JD. Protein tyrosine phosphatase stimulates Ca(2+)-dependent amylase secretion from pancreatic acini. *J Biol Chem* 1991; 266 (27): 17744-17746.
- Jenkins TC, Thies EJ, Fotouhi N. Dietary soybean oil changes lipolytic rate and composition of fatty acids in plasma membranes of ovine adipocytes. *J Nutr* 1994; 124 (4): 566-570.
- Jensen RT, Gardner JD. Identification and characterization of receptors for secretagogues on pancreatic acinar cells. *Fed Proc* 1981; 40 (10): 2486-2496.
- Jensen RT. Receptors on pancreatic acinar cells. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 3<sup>a</sup> ed. Ed: Johnson. Raven Press. New York 1994; 1377-1446.
- Jialal I, Grundy SM. Effect of combined supplementation with alpha-tocopherol, ascorbate, and beta carotene on low-density lipoprotein oxidation. *Circulation* 1993; 88 (6): 2780-2786. Comment in: *Circulation* 1994; 90 (6): 3119-3121.
- Jones PJ, Lichtenstein AH, Schaefer EJ, Namchuk GL. Effect of dietary fat selection on plasma cholesterol synthesis in older, moderately hypercholesterolemic humans. *Arterioscler Thromb* 1994; 14 (4): 542-548.
- Jonnalagadda SS, Trautwein EA, Hayes KC. Dietary fats rich in saturated fatty acids (12:0, 14:0, and 16:0) enhance gallstone formation relative to monounsaturated fat (18:1) in cholesterol-fed hamsters. *Lipids* 1995; 30 (5): 415-424.
- Jorgensen H, Gabert VM, Hedeman MS, Jensen SK. Digestion of fat does not differ in growing pigs fed diets containing fish oil, rapeseed oil or coconut oil. *J Nutr* 2000; 130 (4): 852-857.
- Jorpes JE, Mutt V. Secretin and Cholecystokinin (CCK), in Jorpes and Mutt (Eds.) secretin, cholecystokinin, pancreocymmin and gastrin. *Handbook of Experimental Pharmacology* 1973; 34: 1-179.



- Jorpes JE, Mutt V. The gastrointestinal hormones secretin and cholecystokinin. En: "The exocrine pancreas" 6<sup>a</sup> ed. Ed: Reuch AVS and Cameron MP. Ciba Found Symp., Churchill, London 1962; 150-164.
- Jozanov-Stankov O, Demajo M, Djujic I, Mandic M. Selenium intake as a modulator of responsiveness to oxidative stress. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1998; 17 (3-4): 251-257.
- Juliusson G, Vitols S, Liliemark J. Disease-related hypocholesterolemia in patients with hairy cell leukemia. Positive correlation with spleen size but not with tumor cell burden or low density lipoprotein receptor activity. *Cancer* 1995; 76 (3): 423-428.
- Jump DB, Clarke SD. Regulation of gene expression by dietary fat. *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 63-90.
- Jump DB, Clarke SD, Thelen A, Liimatta M, Ren B, Badin MV. Dietary fat, genes, and human health. *Adv Exp Med Biol* 1997; 422: 167-176.
- Jumpsen J, Lien EL, Goh YK, Clandinin MT. Small changes of dietary (n-6) and (n-3)/fatty acid content ratio alter phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine fatty acid composition during development of neuronal and glial cells in rats. *J Nutr* 1997; 127 (5): 724-731.
- Justice JD, Brannon PM. Synthesis of amylase by cultured rat pancreatic acinar cells: effects of antecedent diet. *J Nutr* 1989; 119 (5): 805-812.
- Justrabo E, Faivre JM, Guillermand H, Rifle G, Genin R, Chalopin JM. Cholesterol embolisms. The anatomical, clinical and pathogenetic aspects. Two case reports, including one case of pseudo periarteritis nodosa (author's transl). *Sem Hop* 1982; 58 (24): 1489-1496.
- Jyotheeswaran S, Li P, Chang TM, Chey WY. Endogenous nitric oxide mediates pancreatic exocrine secretion stimulated by secretin and cholecystokinin in rats. *Pancreas* 2000; 20 (4): 401-407.
- Kafatos A, Verhagen H, Moschandreas J, Apostolaki I, Van Westerop JJ. Mediterranean diet of Crete: foods and nutrient content. *J Am Diet Assoc* 2000; 100 (12): 1487-1493.
- Kagawa Y, Hirayama K, Uchida E, Izumisawa Y, Yamaguchi M, Kotani T, Niiyama M, Yoshino T, Taniyama H. Systemic atherosclerosis in dogs: histopathological and immunohistochemical studies of atherosclerotic lesions. *J Comp Pathol* 1998; 118 (3): 195-206.
- Kahn BB, Pedersen O. Suppression of GLUT4 expression in skeletal muscle of rats that are obese from high fat feeding but not from high carbohydrate feeding or genetic obesity. *Endocrinology* 1993; 132 (1): 13-22.
- Kaikkonen J, Nyyssonen K, Tomasi A, Iannone A, Tuomainen TP, Porkkala-Sarataho E, Salonen JT. Antioxidative efficacy of parallel and combined supplementation with coenzyme Q10 and d-alpha-tocopherol in mildly hypercholesterolemic subjects: a randomized placebo-controlled clinical study. *Free Radic Res* 2000; 33 (3): 329-340.
- Kajinami K. Genotype-phenotype correlations in familial hypercholesterolemia. *Nippon-Rinsho* 1999; 57 (12): 2770-2775.
- Kamanna VS, Roh DD, Kirschenbaum MA. Hyperlipidemia and kidney disease: concepts derived from histopathology and cell biology of the glomerulus. *Histol Histopathol* 1998; 13 (1): 169-179.
- Kanakaraj P, Singh M. Influence of cholesterol-enrichment under in vivo and in vitro conditions on the erythrocyte membrane lipids and its deformability. *Indian J Biochem Biophys* 1989; 26 (6): 381-385.

- Kankaanpaa P, Sutas Y, Salminen S, Lichtenstein A, Isolauri E. Dietary fatty acids and allergy. *Ann Med* 1999; 31 (4): 282-287.
- Kannel WB. Factores de riesgo en la enfermedad coronaria. Experiencia del seguimiento durante tres décadas del estudio Framingham. *Hiperte y Arteriodcle* 1989; 1: 77-86.
- Kapshitar' AV. The diagnosis and treatment of acute pancreatitis in patients with atherosclerosis of the vessels. *Lik Sprava* 1999; 3: 97-100.
- Karp G. *Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos*. Ed. McGraw-Hill-Interamericana 1996.
- Kasahara K Sanai Y. Possible roles of glycosphingolipids in lipid rafts. *Biophys Chem* 1999; 82 (2-3): 121-127.
- Kasai R, Kitajima Y, Martin CE, Nozawa Y, Skriver L, Thompson GA Jr. Molecular control of membrane properties during temperature acclimation. Membrane fluidity regulation of fatty acid desaturase action? *Biochemistry* 1976; 15 (24): 5228-5233.
- Kattermann R, Jaworek D, Moller G, Assmann G, Bjorkhem I, Svensson L, Borner K, Boerma G, Leijnse B, Desager JP, et al. Multicentre study of a new enzymatic method of cholesterol determination. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984; 22(3):245-251.
- Kaur M, Kaur J, Ojha S, Mahmood A. Dietary fat effects on brush border membrane composition and enzyme activities in rat intestine. *Ann Nutr Metab* 1996; 40 (5): 269-276.
- Kawamura M, Heinecke JW, Chait A. Pathophysiological concentrations of glucose promote oxidative modification of low density lipoprotein by a superoxide-dependent pathway. *J Clin Invest* 1994; 94 (2): 771-778.
- Kaziro Y. Molecular biology of G-protein. En: "G proteins as mediators of cellular signalling processes. Molecular pharmacology of cell regulation". Vol I. Ed: Houslay and Milligan. John Wiley & Sons, Chichester 1990; 47-66.
- Keane WF. Effect of lipids on glomerular injury and progression of renal disease. *Verh K Acad Geneesk Belg* 1994; 56 (2): 91-104.
- Keane WF. Lipids and progressive renal failure. *Wien Klin Wochenschr* 1996; 108 (14): 420-424.
- Keaney JF Jr, Gaziano JM, Xu A, Frei B, Curran-Celentano J, Shwaery GT, Loscalzo J, Vita JA. Dietary antioxidants preserve endothelium-dependent vessel relaxation in cholesterol-fed rabbits. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90 (24): 11880-11884.
- Keaney JF Jr, Gaziano JM, Xu A, Frei B, Curran-Celentano J, Shwaery GT, Loscalzo J, Vita JA. Low-dose alpha-tocopherol improves and high-dose alpha-tocopherol worsens endothelial vasodilator function in cholesterol-fed rabbits. *J Clin Invest* 1994; 93 (2): 844-851.
- Keaney JF Jr, Guo Y, Cunningham D, Shwaery GT, Xu A, Vita JA. Vascular incorporation of alpha-tocopherol prevents endothelial dysfunction due to oxidized LDL by inhibiting protein kinase C stimulation. *J Clin Invest* 1996; 98 (2): 386-394.
- Keaney JF Jr, Vita JA. Atherosclerosis, oxidative stress, and antioxidant protection in endothelium-derived relaxing factor action. *Prog Cardiovasc Dis* 1995; 38 (2): 129-154.
- Keelan M, Clandinin MT, Thomson AB. Dietary lipids influence the activity of delta 5-desaturase and phospholipid fatty acids in rat enterocyte microsomal membranes. *Can J Physiol Pharmacol* 1997; 75 (8): 1009-1014.
- Keelan M, Doring K, Tavernini M, Wierzbicki E, Clandinin MT, Thomson AB. Dietary omega 3 fatty acids and cholesterol modify enterocyte microsomal membrane phospholipids,

- cholesterol content and phospholipid enzyme activities in diabetic rats. *Lipids* 1994; 29 (12): 851-858.
- Keelan M, Wierzbicki A, Clandinin MT, Walker K, Thomson AB. Alterations in dietary fatty acid composition alter rat brush border membrane phospholipid fatty acid composition. *Diabetes Res* 1990; 14 (4): 165-170.
- Keelan M, Clandinin MT, Thomson AB. Refeeding varying fatty acid and cholesterol diets alters phospholipids in rat intestinal brush border membrane. *Lipids* 1997; 32 (8): 895-901.
- Keim V, Teich N, Fiedler F, Hartig W, Thiele G, Mossner J. A comparison of lipase and amylase in the diagnosis of acute pancreatitis in patients with abdominal pain. *Pancreas* 1998; 16 (1): 45-49.
- Kelley DS, Taylor PC, Nelson GJ, Mackey BE. Arachidonic acid supplementation enhances synthesis of eicosanoids without suppressing immune functions in young healthy men. *Lipids* 1998; 33 (2): 125-130.
- Kern F Jr. Epidemiology and natural history of gallstones. *Semin Liver Dis* 1983; 3 (2): 87-96.
- Kern HF. Fine structure of the human exocrine pancreas. En: *The exocrine pancreas: biology, pathobiology and diseases*. Ed: Go VLW. Raven Press, New York 1986; 9-19.
- Keys A. Coronary heart disease in seven countries. *Circulation* 1970; 41: 201-211.
- Keys A., Vivanco, F., Rodriguez Miñón, J.L., Keys, M.H., Castro Mendoza, H. Studies of diet, body fatness and serum cholesterol in Madrid. *Metabolism* 1954; 2: 196-211.
- Khalifa F, Prost J, Belleville J, Sarda L. Pancreatic digestive hydrolase activities in growing rats fed alternately on raw and heated soya-bean flour. *Br J Nutr* 1994; 72 (4): 533-544.
- Khosla P, Hayes KC. Dietary palmitic acid raises plasma LDL cholesterol relative to oleic acid only at a high intake of cholesterol. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1210 (1): 13-22.
- Khovidhunkit W, Memon RA, Feingold KR, Grunfeld C. Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. *J Infect Dis* 2000; 181 Suppl 3: S462-S472.
- Kim LT, Yamada KM. The regulation of expression of integrin receptors. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 214 (2): 123-131.
- Kimura W, Mossner J. Role of hypertriglyceridemia in the pathogenesis of experimental acute pancreatitis in rats. *Int J Pancreatol* 1996; 20 (3): 177-184.
- Kinoshita FA, Ueno Y, Miwa M, Nishino M, Inoue H. Protein tyrosine kinase inhibitors promote amylase secretion and inhibit ornithine decarboxylase induction in sialogogue-stimulated rat parotid explants. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 223: 170-174.
- Kinsella JE. Lipids, membrane receptors, and enzymes: effects of dietary fatty acids. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1990; 14 (5 Suppl): 200S-217S.
- Kirchgessner AL, Gershon MD. Innervation of the pancreas by neurons in the gut. *J Neurosci* 1990; 10 (5): 1626-1642.
- Kirchgessner M, Stangl GI, Reichlmayr-Lais AM, Eder K. The effects of dietary oils on the fatty acid composition and osmotic fragility of rat erythrocytes. *Z Ernahrungswiss* 1994; 33 (2): 146-158.
- Kisfalvi K, Burghardt B, Varga G, Papp M. Critical evaluation of factors influencing pancreatic cytoprotection. *Orv Hetil* 1996; 137 (15): 787-791.
- Kissileff HR, Pi-Sunyer FX, Thornton J, Smith GP. C-terminal octapeptide of cholecystokinin decreases food intake in man. *Am J Clin Nutr* 1981; 34 (2): 154-160.

- Kit S, Thomson AB, Clandinin MT. Diet fat and oral insulin-like growth factor influence the membrane fatty acid composition of suckling rat small intestine. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29 (1): 18-25.
- Kitagawa S, Endo J, Kametani F. Effects of long-chain cis-unsaturated fatty acids and their alcohol analogs on aggregation of bovine platelets and their relation with membrane fluidity change. *Biochim Biophys Acta* 1985; 818 (3): 391-397.
- Kitagawa S, Yamaguchi Y, Kunitomo M, Imaizumi N, Fujiwara M. Altered vasoconstrictor responsiveness in vitamin D-induced arteriosclerotic rat aortas. *Jpn J Pharmacol* 1993; 61 (4): 283-289.
- Klurfeld DM. Nutritional regulation of gastrointestinal growth. *Front Biosci* 1999; 4: D299-D302.
- Known JS, Snook JT, Wardlaw GM, Hwang DH. Effects of diets high in saturated fatty acids, canola oil or safflower oil on platelet function, thromboxane B<sub>2</sub> formation and fatty acid composition of platelet phospholipids. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 351-358.
- Knox R, Stein I, Levinson D, Tso P, Mansbach CM 2nd. Effect of fat pre-feeding on bile flow and composition in the rat. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1083 (1): 65-70.
- Kogteva GS, Bezuglov VV. Unsaturated fatty acids as endogenous biorregulators. *Biochemistry (Mosc)* 1998; 63 (1): 4-12.
- Kohler E, Beglinger C, Dettwiler S, Whitehouse I, Gyr K. Effect of a new somatostatin analogue on pancreatic function in healthy volunteers. *Pancreas* 1986; 1 (2): 144-149.
- Koike T, Ishida G, Tniguchi M, Higaki K, Ayaki Y, Saito M, Sakakihara Y, Iwamori M, Ohno K. Decreased membrane fluidity and unsaturated fatty acids in Niemann-Pick disease type C fibroblasts. *BBA-Molecular Basis of Disease* 1998; 1406 (3): 327-335.
- Konrad SD, Cook SL, Goh YK, French MA, Clandinin MT. Use of deuterium oxide to measure de novo fatty acid synthesis in normal subjects consuming different dietary fatty acid composition. *BBA- Lipids and Lipid Metabolism* 1998; 1393 (1): 143-152.
- Konturek SJ, Bilski J, Tasler J, Laskiewicz J. Gut hormones in stimulation of gastroduodenal alkaline secretion in conscious dogs. *Am J Physiol* 1985; 248 (6 Pt 1): G687-G691.
- Konturek SJ, Domschke S, Domschke W, Dembinski A, Krol R, Demling L. Cyclic AMP and bicarbonate responses of the dog pancreas to vasoactive intestinal peptide (VIP) and secretion. *J Lab Clin Med* 1976; 88 (4): 608-613.
- Konturek SJ, Jaworek J, Cieszkowski M, Pawlik W, Kania J, Bloom SR. Comparison of effects of neurotensin and fat on pancreatic stimulation in dogs. *Am J Physiol* 1983; 244 (6): G590-G598.
- Konturek SJ, Meyers CA, Kwiecien N, Obtulowicz W, Tasler J, Oleksy J, Kopp B, Coy DH, Schally AV. Effect of human pancreatic polypeptide and its C-terminal hexapeptide on pancreatic secretion in man and in the dog. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17 (3): 395-399.
- Konturek SJ, Radecki T, Thor P, Dembinski A. Release of cholecystokinin by amino acids. *Proc Soc Exp Biol Med* 1973; 143 (2): 305-309.
- Konturek SJ, Thor PJ, Bilski J, Bielanski W, Laskiewicz J. Relationships between duodenal motility and pancreatic secretion in fasted and fed dogs. *Am J Physiol* 1986; 250 (5 Pt 1): G570-G574.
- Konturek JW, Hengst K, Kulesza E, Gabryelewicz A, Konturek SJ. Role of endogenous nitric oxide in the control of exocrine and endocrine pancreatic secretion in humans. *Gut* 1997; 40 (1): 86-91.

- Konturek SJ, Bilski J, Konturek PK, Cieszkowski M, Pawlik W. Role of endogenous nitric oxide in the control of canine pancreatic secretion and blood flow. *Gastroenterology* 1993; 104 (3): 896-902.
- Konturek SJ, Konturek JW, Lamers CB, Tasler J, Bilski J. Role of secretin and CCK in the stimulation of pancreatic secretion in conscious dogs. Effects of atropine and somatostatin. *Int J Pancreatol* 1987; 2 (4): 223-235.
- Koop I, Schindler M, Bosshammer A, Scheibner J, Stange E, Koop H. Physiological control of cholecystokinin release and pancreatic enzyme secretion by intraduodenal bile acids. *Gut* 1996; 39 (5): 661-667.
- Koopmans HS, Deutsch JA, Branson PJ. The effect of cholecystokinin pancreozymin on hunger and thirst in mice. *Behav Biol* 1972; 7 (3): 441-444.
- Kouba M, Mourot J. Effect of a high linoleic acid diet on delta 9-desaturase activity, lipogenesis and lipid composition of pig subcutaneous adipose tissue. *Reprod Nutr Dev* 1998; 38 (1): 31-37.
- Kozachenko AI, Gurevich SM, Nagler LG. Effect of ascorbate and alpha-tocopherol on resistance of beta-carotene to oxidation. *Bull Exp Biol Med* 2000; 130 (7): 661-664.
- Krause BR, Phares F, Serbin V, Krause L, Hartman AD. Adipocyte cholesterol storage: effect of experimental hypercholesterolemia in the rat. *J Nutr* 1979; 109 (12): 2213-2225.
- Kremmer TP, Bayerdorffer E, Will H, Schulz I. Anion dependence of  $\text{Ca}^{2+}$  transport and ( $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ ) –stimulated  $\text{Mg}^{2+}$ -dependent transport ATPase in rat pancreatic endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 1987; 262(28): 13758-13764.
- Kris-Etherton PM, Krummel D, Russell ME, Dreon D, Mackey S, Borchers J, Wood PD. The effect of diet on plasma lipids, lipoproteins, and coronary heart disease. *J Am Diet Assoc* 1988; 88 (11): 1373-1400.
- Kris-Etherton PM, Derr J, Mitchell DC, Mustad VA, Russell ME, McDonnell ET, Salabsky D, Pearson TA. The role of fatty acid saturation on plasma lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. I. Effects of whole food diets high in cocoa butter, olive oil, soybean oil, dairy butter, and milk chocolate on the plasma lipids of young men. *Metabolism* 1993; 42 (1): 121-129.
- Kritchevsky D. Diet and cholesterolemia. *Lipids* 1977; 12 (1): 49-52.
- Kuklinski B, Zimmermann T, Schweder R. Decreasing mortality in acute pancreatitis with sodium selenite. Clinical results of 4 years antioxidant therapy. *Med Klin* 1995; 90 Suppl 1: 36-41.
- Kummerow FA, Zhou Q, Mahfouz MM. Effect of trans fatty acids on calcium influx into human arterial endothelial cells. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (5): 832-838.
- Kummerow FA. Modification of cell membrane composition by dietary lipids and its implications for atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci* 1983; 414: 29-43.
- Kummerow FA, Przybylski R, Wasowicz E. Changes in arterial membrane lipid composition may precede growth factor influence in the pathogenesis of atherosclerosis. *Artery* 1994; 21 (2): 63-75.
- Kunitomo M, Kinoshita K, Bando Y. Experimental atherosclerosis in rats fed a vitamin D, cholesterol-rich diet. *J Pharmacobiodyn* 1981; 4 (9): 718-723.
- Kunitomo M, Takaoka K, Matsumoto J, Iwai H, Bando Y. Experimental induction of atherosclerosis in guinea pigs fed a cholesterol and vitamin D2-rich diet. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1983; 81 (4): 275-283.

- Kuo PC, Rudd MA, Nicolosi R, Loscalzo J. Effect of dietary fat saturation and cholesterol on low density lipoprotein degradation by mononuclear cells of Cebus monkeys. *Arteriosclerosis* 1989; 9 (6): 919-927.
- Kurata N, Privett OS. Effects of dietary trans acids on the biosynthesis of arachidonic acid in rat liver microsomes. *Lipids* 1980; 15 (12): 1029-1036.
- Kuroda S, Nishida N, Uzu T, Takeji M, Nishimura M, Fujii T, Nakamura S, Inenaga T, Yutani C, Kimura G. Prevalence of renal artery stenosis in autopsy patients with stroke. *Stroke* 2000; 31 (1): 61-65.
- Kurzchalia TV, Parton RG. Membrane microdomains and caveolae. *Curr Opin Cell Biol* 1999; 11 (4): 424-31.
- Kuznetsova OA, Nalivaiko DG, Subbotin IuV. The effect of carbacholine and pentagastrin on pancreatic secretory function during adaptation to a hyperlipemic diet. *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova* 1991; 77 (10): 102-106.
- Kvaszova E, Turecky L, Viktorinova A. The effect of isradipine on lipid parameters in calcinosis in rats induced by vitamin D3. *Bratisl Lek Listy* 1997; 98 (2): 91-96.
- Laburthe M. Vasoactive intestinal peptide (VIP): a ubiquitous neuropeptide member of structural family of regulatory peptides. *Biochimie* 1985; 67 (12): 11-17.
- Lacourse KA, Swanberg LJ, Gillespie PJ, Rehfeld JF, Saunders TL, Samuelson LC. Pancreatic function in CCK-deficient mice: adaptation to dietary protein does not require CCK. *AJP Gastrointest and Liver Physiol* 1999; 276 (5): G1302-G1309.
- Lahaie RG, Dagorn JC. Dietary regulation of pancreatic protein synthesis. II. Kinetics of adaptation of protein synthesis and its effect on enzyme content. *Biochim Biophys Acta* 1981; 654 (1): 119-123.
- Lahoz C, Alonso R, Porres A, Mata P. Effects of dietary fat saturation on levels of plasma lipoprotein (a) and lipids. *Med Clin (Barc)* 1998; 110 (17): 641-645.
- Lai HC, Lasekan JB, Monsma CC, Ney DM. Alteration of plasma lipids in the rat by fractionation of modified milk fat (butterfat). *J Dairy Sci* 1995; 78 (4): 794-803.
- Lajas A.I. Papel de la vía de las tirosina cinasas en el páncreas exocrino. Tesis Doctoral (1998).
- Lajas AI, Pariente JA, Salido GM. Histamine and the cAMP pathway in the guinea-pig pancreas. *Cell Signal* 1995; 7 (1): 57-60.
- Lajas AI, Pozo MJ, Salido GM, Pariente JA. Effect of basic fibroblast growth factor on cholecystokinin-induced amylase release and intracellular calcium increase in male rat pancreatic acinar cells. *Biochem Pharmacol* 1998; 55 (6): 903-908.
- Langner RO, Modrak JB. Alteration of collagen synthesis in different tissues of the atherosclerotic rabbit. *Artery* 1981; 9 (4): 253-261.
- Lankisch PG. Trophic effects of gastrointestinal hormones. *Clin Gastroenterol* 1980; 9 (3): 773-784.
- Lankisch PG, Burchard-Reckert S, Lehnick D. Underestimation of acute pancreatitis: patients with only a small increase in amylase/lipase levels can also have or develop severe acute pancreatitis. *Gut* 1999; 44 (4): 542-544.
- Larsson LI, Rehfeld JF. Peptidergic and adrenergic innervation of pancreatic ganglia. *Scand J Gastroenterol* 1979; 14 (4): 433-437.
- Larsson A, Erlanson-Albertsson C. Effect of phosphatidylcholine and free fatty acids on the activity of pancreatic lipase-colipase. *Biochim Biophys Acta* 1986; 876 (3): 543-550.
- Lauritzen I, Blondeau N, Heurteaux C, Widmann C, Romey G, Lazdunski M. Polyunsaturated fatty acids are potent neuroprotectors. *EMBO J* 2000; 19 (8): 1784-1793.

- Layne KS, Goh YK, Jumpsen JA, Ryan EA, Chow P, Clandinin MT. Normal subjects consuming physiological levels of 18:3 (n-3) and 20:5 (n-3) from flaxseed or fish oils have characteristic differences in plasma lipid and lipoprotein fatty acid levels. *J Nutr* 1996; 126 (9): 2130-2140.
- Leavitt J. Pancreatic exocrine function. *Compr Ther* 1980; 6 (2): 7-10.
- LeBel D, Beattie M. Identification of the proteins exposed on the cytoplasmic surface of the pancreatic zymogen granule. *Biochim Biophys Acta* 1984; 769 (3): 622-624.
- LeBel D, Beattie M. The integral and peripheral proteins of the zymogen granule membrane. *Biochim Biophys Acta* 1984; 769 (3): 611-621.
- Le-Drean, G., Le-Huerou-Luron, I., Philouze-Rome, V., Toullec, R., Guilloteau, P., Response of the calf pancreas to differently processed soya bean and pea diets. *Ann Nutr Metab* 1995; 39 (3): 164-176.
- Lee PC, Nakashima Y, Appert HE, Howard JM. Lipase and colipase in canine pancreatic juice as etiologic factors in fat necrosis. *Surg Gynecol Obstet* 1979; 148 (1): 39-44.
- Lee HS, Lee SK. Intraglomerular lipid deposition in renal disease. *Miner Electrolyte Metab* 1993; 19 (3): 144-148.
- Lee J, Yu BP, Herlihy JT. Modulation of cardiac mitochondrial membrane fluidity by age and calorie intake. *Free Radic Biol Med* 1999; 26 (3-4): 260-265.
- Lee RM. Fish oil, essential fatty acids, and hypertension. *Can J Physiol Pharmacol* 1994; 72 (8): 945-953.
- Leikin AI, Brenner RR. Cholesterol-induced microsomal changes modulate desaturase activities. *Biochim Biophys Acta* 1987; 922 (3): 294-303.
- Leli U, Saluja A, Picard L, Zavertnik A, Steer ML. Effects of a choline-deficient ethionine-supplemented diet on phospholipase C activity in mouse pancreatic acinar cell membranes and in electroporabilized mouse pancreatic acini. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 253 (2): 847-850.
- Leng GC, Horrobin DF, Smith FB, Ells K, Morse-Fisher N, Fowkes FGR. Dietary nutrients and plasma n-3, n-6, saturated and monounsaturated fatty acids. *J Nutr Env Med* 1997; 7 (2): 91-100.
- Leng-Peschlow E. Interference of dietary fibres with gastrointestinal enzymes in vitro. *Digestion* 1989; 44 (4): 200-210.
- Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 1986; 27(1):114-20.
- Levey DJ, Place AR, Rey PJ, Martínez Del Río C. An experimental test of dietary enzyme modulation in pine warblers *Dendroica pinus*. *Physiol Biochem Zool* 1999; 72 (5): 576-587.
- Levy Y, Leibowitz R, Aviram M, Brook JG, Cogan U. Reduction of plasma cholesterol by lovastatin normalizes erythrocyte membrane fluidity in patients with severe hypercholesterolemia. *Br J Clin Pharmacol* 1992; 34 (5): 427-430.
- Lewis JW, Freeman JB. Canine pancreatic exocrine secretory response to low- and high-fat elemental diets. *Can J Surg* 1977; 20 (4): 345-350.
- Lewis DS, Masoro EJ, Yu BP. Quantitative changes in adipocyte plasma membrane in response to nutritional manipulations. *J Lipids Res* 1981; 22: 1094-1101.
- Lhoste EF, Fiszlewicz M, Gueugneau AM, Tranchant T, Corring T. Early adaptation of pancreas to a protein-enriched diet: role of cholecystokinin and gastrin-releasing peptide. *Pancreas* 1994; 9 (5): 624-632.

- Lhoste EF, Gueugneau AM, Garofano A, Philippe C, Levenez F, Corring T. Role of CCK in the regulation of secretion and adaptation in the pig pancreas. *Pancreas* 1995; 11 (1): 86-94.
- Li P, Song Y, Lee KY, Chang TM, Chey WY. A secretin releasing peptide exists in dog pancreatic juice. *Life Sci* 2000; 66 (14): 1307-1316.
- Li F, Hui DY. Synthesis and secretion of the pancreatic-type carboxyl ester lipase by human endothelial cells. *Biochem J* 1998; 329 (Pt 3): 675-679.
- Li P, Lee KY, Chang TM, Chey WY. Hormonal mechanism of sodium oleate-stimulated pancreatic secretion in rats. *Am J Physiol* 1990; 259 (6 Pt 1): G960-G965.
- Lichtenstein AH, Ausman LM, Carrasco W, Jenner JL, Ordovas JM, Schaefer EJ. Short-term consumption of a low-fat diet beneficially affects plasma lipid concentrations only when accompanied by weight loss. Hypercholesterolemia, low-fat diet, and plasma lipids. *Arterioscler Thromb* 1994; 14 (11): 1751-1760.
- Lichtenstein AH, Ausman LM, Carrasco W, Jenner JL, Ordovas JM, Schaefer EJ. Hypercholesterolemic effect of dietary cholesterol in diets enriched in polyunsaturated and saturated fat. Dietary cholesterol, fat saturation, and plasma lipids. *Arterioscler Thromb* 1994; 14 (1): 168-175.
- Lichtenstein AH, Ausman LM, Carrasco W, Jenner JL, Ordovas JM, Schaefer EJ. Hydrogenation impairs the hypolipidemic effect of corn oil in humans. Hydrogenation, trans fatty acids, and plasma lipids. *Arterioscler Thromb* 1993; 13 (2): 154-161.
- Liddle RA, Green GM, Conrad CK, Williams JA. Proteins but not amino acids, carbohydrates, or fats stimulate cholecystokinin secretion in the rat. *Am J Physiol* 1986; 251 (2 Pt 1): G243-G248.
- Liebow C, Rothman SS. Equilibration of pancreatic digestive enzymes across zymogen granule membranes. *Biochim Biophys Acta* 1976; 455 (1): 241-253.
- Liehr RM, Herrmann ME, Emde C, Hopert R, Riecken EO. High amount of dietary carbohydrate does not cause an adaptational increase of stimulated human pancreatic amylase secretion. In *J Pancreatol* 1989; 4 (4): 419-430.
- Lifshitz F, Tarim O. Considerations about dietary fat restrictions for children. *J Nutr* 1996; 126 (4 Suppl): S1031-S1041.
- Lilja P. Effects of intraduodenal amylase, lipase, trypsin, and bile on pancreatic enzyme secretion in the rat. *Eur Surg Res* 1980; 12 (6): 383-391.
- Liu S, Baracos VE, Quinney HA, Clandinin MT. Dietary omega-3 and polyunsaturated fatty acids modify fatty acyl composition and insulin binding in skeletal-muscle sarcolemma. *Biochem J* 1994; 299 (Pt 3): 831-837.
- Lluis F, Gomez G, Fujimura M, Greeley GH Jr, Thompson JC. Peptide YY inhibits pancreatic secretion by inhibiting cholecystokinin release in the dog. *Gastroenterology* 1988; 94 (1): 137-144.
- Lluis F, Gomez G, Greeley GH Jr, Thompson JC. Inhibitory action of peptide YY on pancreatic secretion is independent of secretin. *Biol Signals* 1992; 1 (2): 88-93.
- Lluis F, Gomez G, Hashimoto T, Fujimura M, Greeley GH Jr, Thompson JC. Pancreatic juice enhances fat-stimulated release of enteric hormones in dogs. *Pancreas* 1989; 4 (1): 23-30.
- Lluis F, Gomez G, Fujimura M, Greeley GH Jr, Thompson JC. Peptide YY inhibits nutrient-, hormonal-, and vagally-stimulated pancreatic exocrine secretion. *Pancreas* 1987; 2 (4): 454-462.



- Lochsen T, Ormstad H, Braud H, Brodal B, Christiansen EN, Osmundsen H. Effects of fish oil and n-3 fatty acids on the regulation of delta9-fatty acid desaturase mRNA and -activity in rat liver. *Lipids* 1999; 34 Suppl: S221-S222.
- Logsdon CD, Williams JA. Epidermal growth factor: intracellular Ca<sup>2+</sup> inhibits its association with pancreatic acini and A431 cells. *FEBS Lett* 1983b; 164 (2): 335-339.
- Logsdon CD, Williams JA. Pancreatic acini in short-term culture: regulation by EGF, carbachol, insulin, and corticosterone. *Am J Physiol* 1983a; 244 (6): G675-G682.
- Longhurst CM, Jennings LK. Integrin-mediated signal transduction. *Cell Mol Life Sci* 1998; 54 (6): 514-526.
- Lonovics J, Guzman S, Devitt PG, Hejtmancik KE, Suddith RL, Ryford PL, Thompson JC. Action of pancreatic polypeptide on exocrine pancreas and on release of cholecystokinin and secretin. *Endocrinology* 1981; 108 (5): 1925-1930.
- López JM, Bombi JA, Valderrama R, Giménez A, Pares A, Caballeria J, Imperial S, Navarro S. Effects of prolonged ethanol intake and malnutrition on rat pancreas. *Gut* 1996; 38 (2): 285-292.
- López-Candales A, Grosjillos J, Sasser T, Buddhiraju C, Scherrer D, Lange LG, Kumar VB. Dietary induction of pancreatic cholesterol esterase: a regulatory cycle for the intestinal absorption of cholesterol. *Biochem Cell Biol* 1996; 74 (2): 257-264.
- López-Ledesma R, Frati-Murani AC, Hernández-Domínguez, BC, Cervantes-Montalvo S, Hernández-Luna MH, Juárez C, Moran-Lira S. Monounsaturated fatty acid (avocado) rich diet for mild hypercholesterolemia. *Arch Med Res* 1996; 27 (4): 519-523.
- López-Palomo V, Martínez-Victoria E, Yago MD, Lupiani MJ, Mañas M. Regulation by diet of the pancreas enzyme content of suckling goats. *Arch Physiol Biochem* 1997; 105 (6): 566-571.
- Loscalzo J. Lipoprotein(a). A unique risk factor for atherothrombotic disease. *Arteriosclerosis* 1990; 10 (5): 672-679.
- Loschiavo C, Ferrari S, Aprili F, Grigolini L, Faccini G, Maschio G. Modification of serum and membrane lipid composition induced by diet in patients with chronic renal failure. *Clin Nephrol* 1990; 34 (6): 267-271.
- Louie DS, Chen HT, Owyang C. Inhibition of exocrine pancreatic secretion by opiates is mediated by suppression of cholinergic transmission: characterization of receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 246 (1): 132-136.
- Louw J, Woodroof C, Seier J, Wolfe-Coote SA. The effect of diet on the Vervet monkey endocrine pancreas. *J Med Primatol* 1997; 26 (6): 307-311.
- Love JA, Szebeni K. Histochemistry and electrophysiology of cultured adult rabbit pancreatic neurons. *Pancreas* 1999(b); 18 (1): 65-74.
- Love JA, Szebeni K. Morphology and histochemistry of the rabbit pancreatic innervation. *Pancreas* 1999(a); 18 (1): 53-64.
- Low AG. The activity of pepsin, chymotrypsin and trypsin during 24 h periods in the small intestine of growing pigs. *Br J Nutr* 1982; 48(1):147-159.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RG. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Biochem* 1951; 193: 265-275.
- Lu L, Louie D, Owyang C. A cholecystokinin releasing peptide mediates feedback regulation of pancreatic secretion. *Am J Physiol* 1989; 256 (2 Pt 1): G430-G435.

- Lu SC, Lin MH, Huang PC. A high cholesterol, (n-3) polyunsaturated fatty acid diet induces hypercholesterolemia more than a high cholesterol (n-6) polyunsaturated fatty acid diet in hamsters. *J Nutr* 1996; 126 (7): 1759-1765.
- Luhman CM, Faidley TD, Beitz DC. Postprandial lipoprotein composition in pigs fed diets differing in type and amount of dietary fat. *J Nutr* 1992; 122 (1): 120-127.
- Lund EK, Harvey LJ, Ladha S, Clark DC, Johnson IT. Effects of dietary fish oil supplementation on the phospholipid composition and fluidity of cell membranes from human volunteers. *Ann Nutr Metab* 1999; 43 (5): 290-300.
- Lundberg JM, Tatemoto K, Terenius L, Hellstrom PM, Mutt V, Hokfelt T, Hamberger B. Localization of peptide YY (PYY) in gastrointestinal endocrine cells and effects on intestinal blood flow and motility. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982; 79 (14): 4471-4475.
- Lutz MP, Sutor SL, Abraham RT, Miller LJ. A role for cholecystokinin-stimulated protein tyrosine phosphorylation in regulated secretion by the pancreatic acinar cell. *J Biol Chem* 1993; 268 (15): 11119-11124.
- Lygren I, Jorde R, Burhol PG, Waldum HL. The effect of atropine on plasma vasoactive intestinal polypeptide after intraduodenal infusion of fat in man. *Scand J Gastroenterol* 1982; 17 (3): 405-407.
- Maas MI, Hopman WP, Katan MB, Jansen JB. Inhibition of gastrin-stimulated gastric acid secretion by medium-chain triglycerides and long-chain triglycerides in healthy young men. *Regul Pept* 1996; 66 (3): 203-210.
- Mabayo RT, Furuse M, Yang SI, Okumura J. Medium-chain triacylglycerols enhance release of cholecystokinin in chicks. *J Nutr* 1992; 122 (8): 1702-1705.
- MacLean CM, Edwardson JM. Fusion between rat pancreatic zymogen granules and plasma membranes. Modulation by a GTP-binding protein. *Biochem J* 1992; 286 (Pt 3): 747-753.
- Maher VM, Brown BG. Lipoprotein (a) and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 1995; 6 (4): 229-235.
- Mahfouz M. Effect of dietary trans fatty acids on the delta 5, delta 6 and delta 9 desaturases of rat liver microsomes in vivo. *Acta Biol Med Ger* 1981; 40 (12): 1699-1705.
- Malagelada JR, Go VL, Summerskill WH. Different gastric, pancreatic, and biliary responses to solid-liquid or homogenized meals. *Dig Dis Sci* 1979; 24 (2): 101-110.
- Malfrather P, Glasbrenner B, Buchler M. Role of nutrients in pancreatic adaptation with implication of cholecystokinin release. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1988; 151: 108-113.
- Malinow MR. Homocyst(e)ine, vitamins and genetic interactions in vascular disease. *Can J Cardiol* 1999; 15 Suppl B: B31-B34.
- Mañas M, Yago MD, Quiles JL, Huertas JR, Martínez-Victoria E. Absence of rapid adaptation of the exocrine pancreas of conscious dogs to diets enriched in fat or carbohydrates. *Arch Physiol Biochem* 1996; 104 (7): 819-825.
- Marinero MJ, Roper S, Colas B, Prieto JC, López-Ruiz MP. Modulation of guanosine triphosphatase activity of G proteins by arachidonic acid in rat Leydig cell membranes. *Endocrinology* 2000; 141 (3): 1093-1099.
- Martin TFJ. Lipid hydrolysis by phosphoinositidase C: enzymology and regulation by receptors and guanine nucleotides. En: "Inositol lipids in cell signalling". Ed: Academic Press 1989; 81-112.

- Martínez-Martos JM, Ramírez-Expósito MJ, Prieto I, Mayas MD, Ramírez M. The influence of oleic acid on the aminopeptidase activity in astrocytes of the rat. *Rev Neurol* 1999; 29 (2): 97-101.
- Marti-Vilalta JL, Marti-Fabregas J. Atherosclerosis and cerebral ischemia. A systemic process. *Rev Neurol* 1999; 28 (10): 1016-1020.
- Maruyama Y. Inhibitory effects of arachidonic acid on muscarinic current response in single pancreatic acinar cells of rats. *J Physiol* 1990; 430: 471-482.
- Marx M, Gómez G, Lonovics J, Thompson JC. Cholecystokinin. En: *Gastrointestinal endocrinology*. Eds: Thompson, J.C., Greeley, G.H., Rayford, P.L., Towersend, C.M. Mc Graw-Hill 1987; 213-222.
- Massaro M, Carluccio MA, De-Caterina R. Direct vascular antiatherogenic effects of oleic acid: a clue to the cardioprotective effects of the Mediterranean diet. *Cardiología* 1999; 44 (6): 507-513.
- Massy ZA, Keane WF. Pathogenesis of atherosclerosis. *Semin Nephrol* 1996; 16 (1): 12-20.
- Mata P, Álvarez-Sala LA, Rubio MJ, Nuno J, de Oya M. Effects of long-term monounsaturated vs. Polyunsaturated-enriched diets on lipoproteins in healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 1992; 55 (4): 846-850.
- Matáix J. *Alimentación y Corazón*. Ed: M. Farmacéutica (1995).
- Matáix J, Carazo E. *Nutrición para Educadores*. Ed. Díaz de Santos, S.A. (1995).
- Matáix J, Martínez de Victoria E. *El Aceite de Oliva. Bases para el futuro*. Diputación Provincial de Jaén. Patronato de Promoción Provincial. Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Ed. Dirección General de Investigación y Extensión Agrarias. Centro de Información y Documentación Agraria. Sevilla (1988).
- Matern D, Seydewitz H, Niederhoff H, Wiebusch H, Brandis M. Dyslipidaemia in a body with recurrent abdominal pain, hypersalivation and decreased lipoprotein lipase activity. *Eur J Pediatr* 1996; 155 (8): 660-664.
- Matheson B, Walker KZ, Taylor DM, Peterkin R, Lugg D, O'Dea K. Effect on serum lipids of monounsaturated oil and margarine in the diet of an Antarctic Expedition. *Am J Clin Nutr* 1996; 63 (6): 933-938.
- Matozaki T, Sakamoto C, Nagao M, Nishizaki H, Baba S. G protein in stimulation of PI hydrolysis by CCK in isolated rat pancreatic acinar cells. *Am J Physiol* 1988; 255 (5 Pt 1): E652-E659.
- Matsuo T, Shimomura Y, Saitoh S, Tokuyama K, Takeuchi H, Suzuki M. Sympathetic activity is lower in rats fed a beef tallow diet than in rats fed a safflower oil diet. *Metabolism* 1995; 44 (7): 934-939.
- Matthan NR, Ausman LM, Lichtenstein AH, Jones PJ. Hydrogenated fat consumption affects cholesterol synthesis in moderately hypercholesterolemic women. *J Lipids Res* 2000; 41 (5): 834-839.
- 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 (2): 194-202.
- Maulik N, Yoshida T, Engelman RM, Bagchi D, Otani H, Das DK. Dietary coenzyme Q(10) supplement renders swine hearts resistant to ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 278 (4): H1084-H1090.
- May RJ, Conlon TP, Erspamer V, Gardner JD. Actions of peptides isolated from amphibian skin on pancreatic acinar cells. *Am J Physiol* 1978 ; 235 (2): E112-E118.

- May GL, Wright LC, Obbink KG, Byleveld PM, Garg ML, Ahmad ZI, Sorrell TC. Increased saturated triacylglycerol levels in plasma membranes of human neutrophils stimulated by lipopolysaccharide. *J Lipids Res* 1997; 38 (8): 1562-1570.
- McGahon B, Murray CA, Clements MP, Lynch MA. Analysis of the effect of membrane arachidonic acid concentration on modulation of glutamate release by interleukin-1: an age-related study. *Exp Gerontol* 1998; 33 (4): 343-354.
- McGee CD, Greenwood CE, Cinader B. Dietary fat composition and age affect synaptosomal and retinal phospholipid fatty acid composition in C57BL/6 mice. *Lipids* 1994; 29 (9): 605-610.
- McGill HC Jr, Kushwaha RS. Individuality of lipemic responses to diet. *Can J Cardiol* 1995; 11 Suppl G: G15-G27.
- McKenney JM, Proctor JD, Wright JT, Kolinski RJ, Elswick RK Jr, Coaker JS. The effect of supplemental dietary fat on plasma cholesterol levels in lovastatin-treated hypercholesterolemic patients. *Pharmacotherapy* 1995; 15 (5): 565-572.
- McMurchie EJ, Abeywardena MY, Charnock JS, Gibson RA. Differential modulation of rat heart mitochondrial membrane-associated enzymes by dietary lipid. *Biochim Biophys Acta* 1983; 760 (1): 13-24.
- McNamara DJ, Howell WH. Epidemiologic data linking diet to hyperlipidemia and arteriosclerosis. *Semin Liver Dis* 1992; 12 (4): 347-355.
- McNamara DJ. Dietary cholesterol and the optimal diet for reducing risk of atherosclerosis. *Can J Cardiol* 1995; 11 Suppl G: 123G-126G.
- McPhail LC, Clayton CC, Snyderman R. A potential second messenger role for arachidonic acid: activation of Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinase. *Trans Assoc Am Physicians* 1984; 97 : 222-231.
- McPhail LC, Clayton CC, Snyderman R. A potential second messenger role for unsaturated fatty acids: activation of Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinase. *Science* 1984; 224 (4649): 622-625.
- Meijer GW, Beynen AC, Lovati MR, Manzoni C, Van Zutphen LF, Sirtori CR. Hyperresponsiveness to dietary cholesterol in inbred rabbits is not associated with enhanced reduction in binding of beta-VLDL to liver membranes. *J Nutr* 1992; 122 (4): 931-939.
- Meldrum E, Parker PJ, Carozzi A. The PtdIns-PLC superfamily and signal transduction. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1092 (1): 49-71.
- Menchaca HJ, Michalek VN, Rohde TD, O'Dea TJ, Buchwald H. Decreased blood oxygen diffusion in hypercholesterolemia. *Surgery* 1998; 124 (4): 692-698.
- Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb* 1992; 12 (8): 911-919.
- Mensink RP, Zock PL, Katan MB, Hornstra G. Effect of dietary cis and trans fatty acids on serum lipoprotein[a] levels in humans. *J Lipid Res* 1992; 33 (10): 1493-1501.
- Meraji S, Ziouzenkova O, Resch U, Khoschsorur A, Tatzber F, Esterbauer H. Enhanced plasma level of lipid peroxidation in Iranians could be improved by antioxidants supplementation. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51 (5): 318-325.
- Merrill AH Jr. Lipid modulators of cell function. *Nutr Rev* 1989; 47 (6): 161-169.
- Meyer JH, Jones RS. Canine pancreatic responses to intestinally perfused fat and products of fat digestion. *Am J Physiol* 1974; 226 (5): 1178-1187.

- Meyer JH, Way LW, Grossman MI. Pancreatic bicarbonate response to various acids in duodenum of the dog. *Am J Physiol* 1970; 219 (4): 964-970.
- Miettinen TA, Puska P, Gylling H, Vanhanen H, Vartiainen E. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *N Engl J Med* 1995; 333 (20): 1308-1312. Comment in: *N Engl J Med* 1995; 333 (20): 1350-1351.
- Minor RL Jr, Myers PR, Guerra R Jr, Bates JN, Harrison DG. Diet-induced atherosclerosis increases the release of nitrogen oxides from rabbit aorta. *J Clin Invest* 1990; 86 (6): 2109-2116.
- Miyasaka K, Funakoshi A, Shikado F, Kitani K. Stimulatory and inhibitory effects of bile salts on rat pancreatic secretion. *Gastroenterology* 1992; 102 (2): 598-604.
- Miyasaka K, Kitani K. The effect of oleate on pancreatic and bile secretion in the conscious rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 1988; 189 (1): 94-99.
- Mizoguchi J, Imamichi T. Decrease in amylase (E.C. 3.4.21.4.) síntesis i lactating rats. *Br J Nutr* 1987; 57: 291-299.
- Mizuhira V, Nakamura H, Yotsomoto H, Namea T. An application of the electrón probe x-ray microanalyser distribution in the gastric mucosal epithelium. *Proc. IVth International Congress of Histochemistry and Cytochemistry* 1972; 275-276.
- Mizuno N, Naruse S, Kitagawa M, Ishiguro H, Hayakawa T. Effects of phospholipase A2 inhibitors on Ca<sup>2+</sup> oscillations in pancreatic acinar cells. *Pancreas* 2000; 20 (1): 77-83.
- Mohamed-Benkada K, Belleville J, Prost J. Comparative changes between pancreas and pancreatic juice digestive enzyme contents during nutritional rehabilitation following severe protein malnutrition in the rat. *Br J Nutr* 1993; 69 (1): 83-96.
- Monnier L, Avignon A, Colette C, Piperno M. Primary nutritional and drug prevention of atherosclerosis. *Rev Med Interne* 1999; 20 Suppl 3: S360-S370.
- Montano CE, Fernandez ML, McNamara DJ. Regulation of apolipoprotein B-containing lipoproteins by vitamin C level and dietary fat saturation in guinea pigs. *Metabolism* 1998; 47 (7): 883-891.
- Monte MJ, Jimenez R. Effects of a hypercholesterolaemia-inducing diet on biliary electrolytes and lipid secretion in the rat. *Int J Exp Pathol* 1993; 74 (2): 203-210.
- Moolenaar W, Lamers CB. Cholesterol crystal embolization to liver, gallbladder, and pancreas. *Dig Dis Sci* 1996; 41 (9): 1819-1822.
- Moon J, Bandy B, Davison AJ. Hypothesis: etiology of atherosclerosis and osteoporosis: are imbalances in the calciferol endocrine system implicated?. *J Am Coll Nutr* 1992; 11 (5): 567-583.
- Moore S. Pathogenesis of atherosclerosis. *Metabolism* 1985; 34 (12 Suppl 1): S13-S16.
- Mooren FC, Turi S, Gunzel D, Schlue WR, Domschke W, Singh J, Lerch MM. Calcium-magnesium interactions in pancreatic acinar cells. *FASEB J* 2001; 15 (3): 659-672.
- Morgado N, Galleguillos A, Sanhueza J, Garrido A, Nieto S, Valenzuela A. Effect of the degree of hydrogenation of dietary fish oil on the trans fatty acid content and enzymatic activity of rat hepatic microsomes. *Lipids* 1998; 33 (7): 669-673.
- Morgado N, Sanhueza J, Galleguillos A, Garrido A, Nieto S, Valenzuela A. Effect of dietary hydrogenated fish oil on the plasma lipoprotein profile and on the fatty acid composition of different tissues on the rat. *Ann Nutr Metab* 1999; 43 (5): 310-318.
- Mori M, Itabe H, Takatoku K, Shima K, Inoue J, Nishiura M, Takahashi H, Ohtake H, Sato R, Higashi Y, Imanaka T, Ikegami S, Takano T. Presence of phospholipid-neutral lipid

- complex structures in atherosclerotic lesions as detected by a novel monoclonal antibody. *J Biol Chem* 1999; 274 (35): 24828-24837.
- Mori J, Satoh H, Satoh Y, Honda F. Amines and the rat exocrine pancreas: Effects of amines on pancreatic secretion. *Jpn J Pharmacol* 1979; 29: 923-933.
- Mori TA, Burke V, Puddey IB, Watts GF, O'Neal DN, Best JD, Beilin LJ. Purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids have differential effects on serum lipids and lipoproteins, LDL particle size, glucose, and insulin in mildly hyperlipidemic men. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (5): 1085-1094.
- Morisset J, Larose L, Korc M. Epidermal growth factor inhibits rat pancreatic cell proliferation, causes acinar cell hypertrophy, and prevents caerulein-induced desensitization of amylase release. *Endocrinology* 1989; 124 (6): 2693-2698.
- Morita Y, Yoshikawa T, Takeda S, Matsuyama K, Takahashi S, Yoshida N, Clemens MG, Kondo M. Involvement of lipid peroxidation in free fatty acid-induced isolated rat pancreatic acinar cell injury. *Pancreas* 1998; 17 (4): 383-389.
- Moriyasu M, Lee YL, Lee KY, Chang TM, Chey WY. Effect of digested protein on pancreatic exocrine secretion and gut hormone release in the dog. *Pancreas* 1994; 9 (1): 129-133.
- Moriyoshi Y. Potentiating effect of secretin on cholecystokinin-stimulated exocrine pancreatic secretion in rats. *Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi* 1989; 86 (10): 2425-2433.
- Moriyoshi Y., Shiratori K, Watanabe S, Takeuchi T. Potentiating effect of CCK and secretin on rat exocrine pancreas and its cholinergic dependence. *Pancreas* 1991; 6 (5): 603-608.
- Morson LA, Clandinin MT. Diets varying in linoleic and linolenic acid content alter liver plasma membrane lipid composition and glucagon-stimulated adenylate cyclase activity. *J Nutr* 1986; 116: 2355-2362.
- Mosenthin R, Sauer WC. Exocrine pancreatic secretions in pigs as influenced by the source of carbohydrate in the diet. *Z Ernahrungswiss* 1993; 32 (2): 152-155.
- Moussa M, Garcia J, Ghisolfi J, Periquet B, Thouvenot JP. Dietary essential fatty acid deficiency differentially affects tissues of rats. *J Nutr* 1996; 126(12):3040-3045.
- Moussa M, Tkaczuk J, Ragab J, Garcia J, Abbal M, Ohayon E, Ghisolfi J, Thouvenot JP. Relationship between the fatty acid composition of rat lymphocytes and immune functions. *Br J Nutr* 2000; 83 (3): 327-333.
- Mugge A, Elwell JH, Peterson TE, Harrison DG. Release of intact endothelium-derived relaxing factor depends on endothelial superoxide dismutase activity. *Am J Physiol* 1991a; 260 (2 Pt 1): C219-C225.
- Mugge A, Elwell JH, Peterson TE, Hofmeyer TG, Heistad DD, Harrison DG. Chronic treatment with polyethylene-glycolated superoxide dismutase partially restores endothelium-dependent vascular relaxations in cholesterol-fed rabbits. *Circ Res* 1991b; 69 (5): 1293-1300.
- Muldoon MF, Marsland A, Flory JD, Rabin BS, Whiteside TL, Manuck SB. *Clin Immunol Immunopathol* 1997; 84 (2): 145-149.
- Muramatsu K, Maitani Y, Takayama K, Nagai T. The relationship between the rigidity of the liposomal membrane and the absorption of insulin after nasal administration of liposomes modified with an enhancer containing insulin in rabbits. *Drug Dev Ind Pharm* 1999; 25 (10): 1099-1105.
- Muriana FJ, Ruiz-Gutierrez V, Blaya JA, Bolufer J. Lipid and fatty acid composition of hepatopancreatic brush-border membrane vesicles from the prawn *Penaeus japonicus*. *J Biochem (Tokyo)* 1993; 113 (5): 625-629.

- Muriana FJ, Ruiz-Gutierrez V, Bolufer J. Phospholipid fatty acid compositions of hepatopancreas and muscle from the prawn, *Penaeus japonicus*. *J Biochem (Tokyo)* 1993; 114 (3): 404-407.
- Muriana FJ, Ruiz-Gutierrez V, Vázquez CM. Influence of dietary cholesterol on polyunsaturated fatty acid composition, fluidity and membrane-bound enzymes in liver microsomes of rats fed olive and fish oil. *Biochimie* 1992; 74 (6): 551-556.
- Muriana FJ, Vázquez CM, Ruiz-Gutierrez V. Fatty acid composition and properties of the liver microsomal membrane of rats fed diets enriched with cholesterol. *J Biochem (Tokyo)* 1992; 112 (4): 562-567.
- Muriana FJ, Villar J, Ruiz-Gutierrez V. Intake of olive oil can modulate the transbilayer movement of human erythrocyte membrane cholesterol. *Cell Mol Life Sci* 1997; 53 (6): 496-500.
- Murillo A, Lopez MA. Contribution to the study of hormonal regulation of pancreatic secretin in the rabbit. *Rev Esp Fisiol* 1971; 27 (2): 131-138.
- Murillo MD. Grasa de la dieta y envejecimiento de mitocondrias cerebrales. Tesis Doctoral 1998.
- Murthy V, Julien P, Gagne C. Molecular pathobiology of the human lipoprotein lipase gene. *Pharmacol Ther* 1996; 70 (2): 101-135.
- Mustad VA, Ellsworth JL, Cooper AD, Kris-Etherton PM, Etherton TD. Dietary linoleic acid increases and palmitic acid decreases hepatic LDL receptor protein and mRNA abundance in young pigs. *J Lipid Res* 1996; 37 (11): 2310-2323.
- Mustad VA, Etherton TD, Cooper AD, Mastro AM, Pearson TA, Jonnalagadda SS, Kris-Etherton PM. Reducing saturated fat intake is associated with increased levels of LDL receptors on mononuclear cells in healthy men and women. *J Lipid Res* 1997; 38: 459-468.
- Mutanen M. Comparison between dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acids as regards diet-related diseases. *Biomed Pharmacother* 1997; 51 (8): 314-317.
- Nair S, Pitchumoni CS. Diabetic ketoacidosis, hyperlipidemia, and acute pancreatitis: the enigmatic triangle. *Am J Gastroenterol* 1997; 92 (9): 1560-1561.
- Nanji AA, Griniuviene B, Sadrzadeh SM, Levitsky S, McCully JD. Effect of type of dietary fat and ethanol on antioxidant enzyme mRNA induction in rat liver. *J Lipid Res* 1995; 36 (4): 736-744.
- Nardini M, Scaccini C, D'Aquino M, Benedetti PC, di-Felice M, Tomassi G. Lipid peroxidation in liver microsomes of rats fed soybean, olive, and coconut oil. *J Nutr Biochem* 1992; 4 (1): 39-44, 43 ref.
- Navarro MD, Periago JL, Pita ML, Hortelano P. The n-3 polyunsaturated fatty acid levels in rat tissue lipids increase in response to dietary olive oil relative to sunflower oil. *Lipids* 1994; 29 (12): 845-849.
- Navas JM, Calvo JJ, López MA, De Dios I. Exocrine pancreatic response to intraduodenal fatty acids and fats in rabbits. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol* 1993; 105 (1): 141-145.
- Naylor WG. Review of preclinical data of calcium channel blockers and atherosclerosis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 33 Suppl 2: S7-S11.
- Neelands PJ, Clandinin MT. Diet fat influences liver plasma-membrane lipid composition and glucagon-stimulated adenylate cyclase activity. *Biochem J* 1983; 212: 573-583.

- Negre-Salvayre A, Mabile L, Delchambre J, Salvayre R. alpha-Tocopherol, ascorbic acid, and rutin inhibit synergistically the copper-promoted LDL oxidation and the cytotoxicity of oxidized LDL to cultured endothelial cells. *Biol Trace Elem Res* 1995; 47 (1-3): 81-91.
- Nelson GJ, Schmidt PC, Kelley DS. Low-fat diets do not lower plasma cholesterol levels in healthy men compared to high-fat diets with similar fatty acid composition at constant caloric intake. *Lipids* 1995; 30 (11): 969-976.
- Nelson GJ, Schmidt PS, Bartolini GL, Kelley DS, Kyle D. The effect of dietary docosahexaenoic acid on platelet function, platelet fatty acid composition, and blood coagulation in humans. *Lipids* 1997; 32 (11): 1129-1136.
- Nestel P, Clifton P, Noakes M. Effects of increasing dietary palmitoleic acid compared with palmitic and oleic acids on plasma lipids of hypercholesterolemic men. *J Lipid Res* 1994; 35 (4): 656-662.
- Nestel PJ, Pomeroy S, Kay S, Sasahara T, Yamashita T. Effect of a stearic acid-rich, structured triacylglycerol on plasma lipid concentrations. *Am J Clin Nutr* 1998; 68 (6): 1196-1201.
- Nestel PJ, Poyser A, Hood RL, Mills SC, Willis MR, Cook LJ, Scott TW. The effect of dietary fat supplements on cholesterol metabolism in ruminants. *J Lipid Res* 1978; 19 (7): 899-909.
- Nestel PJ, Noakes M, Belling GB, McArthur R, Clifton PM. Effect on plasma lipids of interesterifying a mix of edible oils. *Am J Clin Nutr* 1995; 62 (5): 950-955.
- Nevalainen TJ, Haapamaki MM, Gronroos JM. Roles of secretory phospholipases A(2) in inflammatory diseases and trauma. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1488 (1-2): 83-90.
- Neville MC, Picciano MF. Regulation of milk lipid secretion and composition. *Ann Rev Nutr* 1997; 17: 159-184.
- Ng TK, Hayes KC, DeWitt GF, Jegathesan M, Satgunasingam N, Ong AS, Tan D. Dietary palmitic and oleic acids exert similar effects on serum cholesterol and lipoprotein profiles in normocholesterolemic men and women. *J Am Coll Nutr* 1992; 11 (4): 383-390.
- Nicolosi RJ, Stucchi AF, Kowala MC, Hennessy LK, Hegsted DM, Schaefer EJ. Effect of dietary fat saturation and cholesterol on LDL composition and metabolism. In vivo studies of receptor and nonreceptor-mediated catabolism of LDL in cebus monkeys. *Arteriosclerosis* 1990; 10(1): 119-128.
- Niebel W, Singer MV, Hanssen LE, Goebell H. Effect of atropine on pancreatic bicarbonate output and plasma concentrations of immunoreactive secretin in response to intraduodenal stimulants. *Scand J Gastroenterol* 1983; 18 (6): 803-808.
- Niederau C, Grendell JH, Rothman SS. Digestive end products release pancreatic enzymes from particulate cellular pools, particularly zymogen granules. *Biochim Biophys Acta* 1986; 881 (2): 281-291.
- Niederau C, Niederau M, Borchard F, Ude K, Luthen R, Strohmeyer G, Ferrell LD, Grendell JH. Effects of antioxidants and free radical scavengers in three different models of acute pancreatitis. *Pancreas* 1992; 7 (4): 486-496.
- Nikolic-Paterson DJ, Lan HY, Hill PA, Atkins RC. Macrophages in renal injury. *Kidnet Int Suppl* 1994; 45: S79-S82.
- Nikolova MN, Petkova DH, Koumanov KS. Influence of phospholipid environment on the phosphatidylethanolamine: ceramide-phosphorylethanolamine transferase activity in rat liver plasma membranes. *Int J Biochem* 1992; 24 (3): 447-453.



- Nishizuka Y. Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science* 1992; 258 (5082): 607-614.
- Nishizuka Y. Studies and prospectives of protein kinase C in signal transduction. *Nippon Ketsueki Gakkai Zasshi* 1988; 51 (8): 1321-1326.
- Noelting G, Bernfield P. Sur les enzymes amyloлитiques. III L'amylyase: Dosage de l'activite et controle de l'absence d'amylyase. *Helvetica Chimica Acta* 1948; 31: 286-290.
- Norman PE, Wysocki SJ, Lamawansa MD. The role of vitamin D3 in the aetiology of abdominal aortic aneurysms. *Med Hypotheses* 1995; 45 (1): 17-20.
- Novelli EL, Rodríguez NL, Franca EL, Gebra LM., Ribas, B.O. High dietary carbohydrate and pancreatic lesion. *Braz J Med Biol Res* 1993; 26 (1): 31-36.
- Ntambi JM. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *J Lipids of Res* 1999; 40: 1549-1558.
- Nunes CS, Corring T. Pancreatic exocrine secretion in the pig following test meals of different composition and intra-duodenal loads of glucose and maltose. *Horm Metab Res* 1979; 11 (5): 346-351.
- Nydahl M, Gustafsson IB, Ohrvall M, Vessby B. Similar effects of the rapessed oil (canola oil) and olive oil in a lipid-lowering diet for patients with hyperlipoproteinemia. *J Am Coll Nutr* 1995; 14 (6): 643-651.
- O'Doherty J, Stark RJ. Stimulation of pancreatic acinar secretion: increases in cytosolic calcium and sodium. *Am J Physiol* 1982; 242 (5): G513-G521.
- O'Bryne DJ, O'Keefe SF, Shireman RB. Low-fat, monounsaturate-rich diets reduce susceptibility of low density lipoproteins to peroxidation ex vivo. *Lipids* 1998; 33 (2): 149-157.
- Ochoa JJ, Huertas JR, Quiles JL, Olvera AB, Matáix J. Relative importance of the saponified and unsaponified fractions of dietary olive oil on mitochondrial lipid peroxidation in rabbit heart. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1999; 9 (6): 284-288.
- Ochoa JJ. Capacidad antioxidativa (fracción insaponificable frente a saponificable) de distintas fuentes grasas con alto contenido en ácido oleico. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1998.
- Oda H, Keane WF. Lipids in progression of renal disease. *Kidney Int Suppl* 1997; 62: S36-S38.
- Oda S, Hagino A, Ohneda A, Sasaki Y, Tsuda T. Adrenergic modulation of pancreatic glucagon and insulin secretion in sheep. *Am J Physiol* 1988; 254 (3 Pt 2): R518-R523.
- O'Donohue TL, Charlton CG, Miller RL, Boden G, Jacobowitz DM. Identification, characterization, and distribution of secretin immunoreactivity in rat and pig brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981; 78 (8): 5221-5224.
- Ogawa M, Yoshida S, Ogawa T, Shimada T, Takeshita M. Effect of oleic acid on mitochondrial oxidative phosphorylation in rat brain slices. *Biochem Int* 1988; 17 (4): 773-782.
- Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest* 1993; 91 (6): 2546-2551.
- Ohbo M, Katoh K, Sasaki Y. Effects of saturated fatty acids on amylase release from exocrine pancreatic segments of sheep, rats, hamsters, field voles and mice. *J Comp Physiol B* 1996; 166 (5): 305-309.
- Ohneda A, Yanbe A, Maruhama Y, Ishii S, Kai Y, Abe R, Yamagata S. Characterization of circulating immunoreactive glucagon in response to intraduodenal administration of fat in dogs. *Gastroenterology* 1975; 68 (4 Pt 1): 715-721.

- Okada S, York DA, Bray GA. Procolipase mRNA: tissue localitation and effects of diet and adrenalectomy. *Biochem J* 1993; 292 (Pt 3): 787-789.
- Okawa H, Doi K, Fujita T, Okaniwa A. Pathology of experimental atherosclerosis: arterial lesions of chronic phase in rats loaded with vitamin D2 and cholesterol. *Nippon Juigaku Zasshi* 1982; 44 (2): 241-248.
- Okumura T, Pappas TN, Taylor IL. Pancreatic polypeptide microinjection into the dorsal motor nucleus inhibits pancreatic secretion in rats. *Gastroenterology* 1995; 108 (5): 1517-1525.
- Okutani T, Okabayashi Y, Koide M, Matsushita K, Fujii M, Hasegawa H, Kido Y, Otsuki M, Kasuga M. Tryptophan modulates exocrine secretory function in rat pancreatic acini. *J Gastroenterol* 1996; 31 (2): 254-259.
- Olson RE. Is it wise to restrict fat in the diets of children? *J Am Diet Assoc* 2000; 100 (1): 28-32.
- Onaga T, Nagashima C, Sakata T. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on the temporal coordination of duodenal contractions and pancreatic exocrine secretion in sheep. *J Comp Physiol (B)* 2000; 170 (5-6): 469-479.
- Osnes M. Does human bile stimulate the exocrine pancreas? *Scand J Gastroenterol* 1981; 16 (1): 45-47.
- Otani H, Mune M, Yukawa S, Smith D, Meydani M, Blumberg J. Vitamin E treatment of experimental glomerular disease in rats. *Kidney Int Suppl* 1999; 71: S66-S69.
- Otto J, Ordovas JM, Smith D, van Dongen D, Nicolosi RJ, Schaefer EJ. Lovastatin inhibits diet induced atherosclerosis in F1B golden Syrian hamsters. *Atherosclerosis* 1995; 114 (1): 19-28.
- Ouagued M, Saraux B, Girard-Globa A, Bourdel G. Differential regulation of lipase and colipase in the rat pancreas by dietary fat and proteins. *J Nutr* 1980; 110 (11): 2302-2309.
- Owyang C. Negative feedback control of exocrine pancreatic secretion: role of cholecystokinin and cholinergic pathway. *J Nutr* 1994; 124: S1321-S1326.
- Ozer NK, Palozza P, Boscoboinik D, Azzi A. d-alpha-Tocopherol inhibits low density lipoprotein induced proliferation and protein kinase C activity in vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1993; 322 (3): 307-310.
- Ozimek L, Mosenthin R, Sauer WC. Effect of dietary canola oil and its degree of oxidation on exocrine pancreatic secretions in growing pigs. *Z Ernährungswiss* 1995; 34 (3): 224-230.
- Pajari AM, Mutanen M. Phospholipid fatty acid composition and protein kinase C activity in the large intestine of rats fed on butter and coconut-oil diets. *Br J Nutr* 1999; 82 (5): 411-418.
- Pajari AM, Rasillo ML, Mutanen M. Protein kinase C activation in rat colonic mucosa after diets differing in their fatty acid composition. *Cancer Lett* 1997; 114 (1-2): 101-103.
- Palinski W, Rosenfeld ME, Yla-Herttuala S, Gurtner GC, Socher SS, Butler SW, Parthasarathy S, Carew TE, Steinberg D, Witztum JL. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86 (4): 1372-1376.
- Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987 Jun; 327 (6122): 524-526.
- Palmquist DL, Schanbacher FL. Dietary fat composition influences fatty acid composition of milk fat globule membrane in lactating cows. *Lipids* 1991; 26 (9): 718-722.

- Pan DA, Hulbert AJ, Storlien LH. Dietary fats, membrane phospholipids and obesity. *J Nutr* 1994; 124 (9): 1555-1565.
- Panczenko-Kresowska B, Ziemiński S, Rudnicki S, Wojtulewicz L, Przepiorka M. The influence of vitamin C and e or beta-carotene on peroxidative processes in persons with myocardial ischemia. *Pol Merkuriusz Lek* 1998; 4 (19): 12-15.
- Pande G. The role of membrane lipids in regulation of integrin functions. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12 (5): 569-574.
- Pandol SJ, Hsu YL, Kondratenko NF, Schoeffield-Payne MS, Steinbach JH. Dual pathways for agonist-stimulated arachidonic acid release in pancreatic acini: roles in secretion. *Am J Physiol* 1991; 260 (3 Pt 1): G423-G433.
- Pap A, Marosi E. New trends in the treatment of exocrine pancreas deficiency. *Orv Hetil* 1992; 133 (45): 2885-2890.
- Paquet MR, St-Jean P, Roberge M, Beaudoin AR. Isolation of zymogen granules from rat pancreas and characterization of their membrane proteins. *Eur J Cell Biol* 1982; 28 (1): 20-26.
- Paragh G, Kovacs E, Seres I, Keresztes T, Balogh Z, Szabo J, Teichmann F, Foris G. Altered signal pathway in granulocytes from patients with hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 1999; 40 (9): 1728-1733.
- Parker RA, Sabrah T, Cap M, Gill BT. Relation of vascular oxidative stress, alpha-tocopherol, and hypercholesterolemia to early atherosclerosis in hamsters. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15 (3): 349-358.
- Parrish, C.C., Myher, J.J., Kuksis, A., Angel, A. Lipid structure of rat adipocyte plasma membranes following dietary lard and fish oil. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1323 (2): 253-262.
- Partridge IG, Low AG, Sambrook IE, Corring T. The influence of diet on the exocrine pancreatic secretion of growing pigs. *Br J Nutr* 1982; 48 (1): 137-145.
- Paye F, Chariot J, Molas G, Benessiano J, Roze C. Release of nonesterified fatty acids during cerulein-induced pancreatitis in rats. *Dig Dis Sci* 1996; 41 (10): 1959-1465.
- Peikin SR, Rottman AJ, Batzri S, Gardner JD. Kinetics of amylase release by dispersed acini prepared from guinea pig pancreas. *Am J Physiol* 1978; 235: E743-E749.
- Peng JH, Rhodes PG. Effect of dietary lipids on phospholipase D activity in rat brain. *Neurochem Res* 1999; 24 (8): 975-979.
- Periago JL, De Lucchi C, Gil A, Suarez MD, Pita ML. Lipid composition of liver microsomes in rats fed a high monounsaturated fatty acid diet. *Biochim Biophys Acta* 1988; 962 (1): 66-72.
- Periago JL, Suarez MD, Pita ML. Effect of dietary olive oil, corn oil and medium-chain triglycerides on the lipid composition of rat red blood cell membranes. *J Nutr* 1990; 120: 986-994.
- Petersen OH, Gallacher DV. Electrophysiology of pancreatic and salivary acinar cells. *Annu Rev Physiol* 1988; 50: 65-80.
- Phylactos AC, Harbige LS, Crawford MA. Essential fatty acids alter the activity of manganese-superoxide dismutase in rat heart. *Lipids* 1994; 29 (2): 111-115.
- Piergiacomini VA, Palacios A, Catala A. Comparative studies on lipid peroxidation of microsomes and mitochondria obtained from different rat tissues: effect of retinyl palmitate. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2001; 64 (2): 75-80.

- Piiper A, Stryjek-Kaminska D, Stein J, Caspary WF, Zeuzem S. Tyrphostins inhibit secretagogue-induced 1,4,5-IP<sub>3</sub> production and amylase release in pancreatic acini. *Am J Physiol* 1994; 266 (3 Pt 1): G363-G371.
- Pinto RM, de Dios I, Urunuela A, Orfao A, Manso MA. Alterations in the glycoconjugates of pancreatic cell membrane induced by acute pancreatitis. *Eur J Cell Biol* 2000; 79 (1): 62-69.
- Podolin DA, Sutherland E, Iwahashi M, Simon FR, Pagliassotti MJ. A high-sucrose diet alters the lipid composition and fluidity of liver sinusoidal membranes. *Horm Metab Res* 1998; 30 (4): 195-199.
- Podolsky DK. Peptide growth factors in the gastrointestinal tract. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 3<sup>a</sup> ed. Ed: Johnson LR. Raven Press, New York, 1981; 129-168.
- Poirier H, Degrace P, Niot I, Bernard A, Besnard P. Localisation and regulation of the putative membrane fatty-acid transporter (FAT) in the small intestine. Comparison with fatty acid-binding proteins (FABP). *Eur J Biochem* 1996; 238: 368-373.
- Polak JM, Bloom SR, Rayford PL, Pearse AGE, Buchan AMJ, Thomson JC. Identification of cholecystokinin-secreting cells. *Lancet II* 1975; 1016-1018.
- Pomerantz KB, Nicholson AC, Hajjar DP. Signal transduction in atherosclerosis: second messengers and regulation of cellular cholesterol trafficking. *Adv Exp Med Biol* 1995; 369: 49-64.
- Pompeia C, López LR, Miyasaka CK, Procopio J, Sannomiya P, Curi R. Effect of fatty acids on leukocyte function. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33 (11): 1255-1268.
- Pronczuk A, Khosla P, Hajri T, Hayes KC. Plasma lipids are affected similarly by dietary lauric or palmitic acid in gerbils and monkeys. *Lipids* 1995; 30 (12): 1157-1161.
- Pschierer V, Richter WO, Schwandt P. Primary chylomicronemia in patients with severe familiar hypertriglyceridemia responds to long-term treatment with (n-3) fatty acids. *J Nutr* 1995; 125 (6): 1490-1494.
- Puigserver A, Wicker C, Gaucher C. Aspects moléculaires de l'adaptation des enzymes pancréatiques et intestinales au régime alimentaire. *Reprod Nutr Dev* 1985; 25: 787-802.
- Qiao Y, Yokoyama M, Kameyama K, Asano G. Effect of vitamin E on vascular integrity in cholesterol-fed guinea pigs. *Arterioscler Thromb* 1993; 13 (12): 1885-1892.
- Quiles JL, Aguilera C, Mesa MD, Ramírez-Tortosa MC, Baro L, Gil A. An ethanolic-aqueous extract of *Curcuma longa* decreases the susceptibility of liver microsomes and mitochondria to lipid peroxidation in atherosclerotic rabbits. *Biofactors* 1998; 8 (1-2): 51-57.
- Quiles JL, Huertas JR, Mañas M, Battino M, Matáix J. Physical exercise affects the lipid profile of mitochondrial membranes in rats fed with virgin olive oil or sunflower oil. *Br J Nutr* 1999; 81 (1): 21-24.
- Quinn PJ, Cherry RJ, eds. *Structural and Dynamic Properties of Lipids and Membranes*. London: Portland Press, 1992.
- Rabini RA, Antosiewicz J, Staffolani R, Polenta M, Testa I, Mazzanti L. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on the erythrocyte membrane. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1991; 67 (2): 129-135.
- Raclot T, Oudart H. Selectivity of fatty acids on lipid metabolism and gene expression. *Proc Nutr Soc* 1999; 58 (3): 633-646.

- Raess BU, Porro RF, Tunnicliff G. Regulation of rabbit erythrocyte Ca(2+)-pump sensitivity to calmodulin in experimental hyperlipidemia. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; 209 (4): 410-417.
- Raitakari OT, McCredie RJ, Witting P, Griffiths KA, Letters J, Sullivan D, Stocker R, Celermajer DS. Coenzyme Q improves LDL resistance to ex vivo oxidation but does not enhance endothelial function in hypercholesterolemic young adults. *Free Radic Biol Med* 2000; 28 (7): 1100-1105.
- Ramachandran HD, Narasimhamurty K, Raina PL. Effect of rice bran and palm oil on the lipid and fatty acid composition of brain tissue. *Journal of Food Science and Technology India* 2000; 37 (1): 25-29.
- Ramesha CS, Paul R, Ganguly J. Effect of dietary unsaturated oils on the biosynthesis of cholesterol, and on biliary and fecal excretion of cholesterol and bile acids in rats. *J Nutr* 1980; 110 (11): 2149-2158.
- Ramírez-Tortosa MC, Mesa MD, Aguilera MC, Quiles JL, Baro L, Ramírez-Tortosa CL, Martínez-Victoria E, Gil A. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999; 147 (2): 371-378.
- Ramírez-Tortosa MC, Quiles JL, Gil A, Matáix J. Rabbit liver mitochondria coenzyme Q10 and hydroperoxide levels: an experimental model of atherosclerosis. *Mol Aspects Med* 1997; 18 Suppl: S233-S236.
- Ramírez-Tortosa, M.C., Aguilera, C.M., Quiles, J.L., Gil, A. Influence of dietary lipids on lipoprotein composition and LDL Cu<sup>(2+)</sup>-induced oxidation in rabbits with experimental atherosclerosis. *Biofactors* 1998; 8 (1-2): 79-85.
- Ramírez-Tortosa MC, Suarez A, Gómez MC, Mir A, Ros E, Matáix J, Gil A. Effect of extra-virgin olive oil and fish-oil supplementation on plasma lipids and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative alteration in free-living spanish male patients with peripheral vascular disease. *Clin Nutr* 1999; 18 (3): 167-174.
- Ramírez-Tortosa MC, Urbano G, López-Jurado M, Nestares T, Gómez MC, Mir A, Ros E, Matáix J, Gil A. Extra-virgin olive oil increases the resistance of LDL to oxidation more than refined olive oil in free-living men with peripheral vascular disease. *J Nutr* 1999; 129 (12): 2177-2183.
- Rausch U, Rudiger K, Vasiloudes P, Kern H, Scheele G. Lipase synthesis in the rat pancreas is regulated by secretin. *Pancreas* 1986; 1 (6): 522-528.
- Reboud JP, Ben Abdeljlil A, Desnuelle P. Variations de la teneur on enzymes du pancreas de rat en fonction de la composition des regimes. *Biochim Biophys Acta* 1962; 58: 326-337.
- Redinger RN, Hermann AH, Small DM. Primate biliary physiology. X. Effects of diet and fasting on biliary lipid secretion and relative composition and bile salt metabolism in the rhesus monkey. *Gastroenterology* 1973; 64 (4): 610-621.
- Regan PT, Go VL, DiMagno EP. Comparison of the effects of cholecystokinin and cholecystokinin octapeptide on pancreatic secretion, gallbladder contraction, and plasma pancreatic polypeptide in man. *J Lab Clin Med* 1980; 96 (4): 743-748.
- Rehfeld JF, Bardram L, Cantor P, Cerman J, Hilsted L, Johnsen AH, Mogensen N, Odum L. Peptide hormone expression and precursor processing. *Acta Oncol* 1989; 28 (3): 315-318.

- Renaud W, Giorgi D, Iovanna J, Dagorn JC. Regulation of concentrations of mRNA for amylase, trypsinogen I and chymotrypsinogen B in rat pancreas by secretagogues. *Biochem J* 1986; 235 (1): 305-308.
- Renaud S, Godsey F, Dumont E, Thevenon C, Ortchanian E, Martín JL. Influence of long-term modification on platelet function and composition in Moselle farmers. *Am J Clin Nutr* 1986; 43: 136-150.
- Reynier MO, Lafont H, Crotte C, Gerolami A. Influence of lipid-rich diets on intestinal cholesterol uptake. *Ann Nutr Metab* 1988; 32 (1): 15-22.
- Rhodes RA, Skerven G, Chey WY, Chang TM. Acid-independent release of secretin and cholecystokinin by intraduodenal infusion of fat in humans. *Pancreas* 1988; 3 (4): 391-398.
- Rianskaia OM. The participation of cholinergic structures at different levels in shaping the immediate adaptation of the pancreas to food quality in ontogeny. *Biull Eksp Biol Med* 1990; 110 (11): 457-458.
- Ribet A, Vaysse N, Clemente F. Fisiología del páncreas exocrino. En: Meyer, P.: Fisiología humana. Ed Barcelona, Salvat 1985; 273-308.
- Rice R. Focus on omega-3. *Ingredients, Health and Nutrition* 1999; 2 (4): 11-12, 14-15.
- Richter WO. Dietary treatment of hipercolesterolemia. *Wien Klin Wochenschr* 1995; 107 (18): 549-554.
- Ricketts J, Brannon PM. Amount and type of dietary fat regulate pancreatic lipase gene expression in rats. *J Nutr* 1994; 124 (8): 1166-1171.
- Riederer J. Value of the serum lipase content in diagnosing pancreatitis. *Dtsch Med Wochenschr* 1995; 120 (40): 1378.
- Riepl RL, Lehnert P. Effects of intraduodenally applied bile salts on pancreatic secretion. *Gastroenterology* 1993; 105 (5): 1592-1593.
- Riepl RL, Lehnert P. The role of bile in the regulation of exocrine pancreatic secretion. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27 (8): 625-631.
- Riepl RL. The effects of bile salts in the duodenum on exocrine pancreatic secretion: stimulating, inhibiting or both? *Z Gastroenterol* 1993; 31 (2): 158-160.
- Rinderk-Necht H. Pancreatic secretory enzymes. En: Go, V.L.W.: The pancreas: biology, pathobiology and disease. Ed. New York, Raven Press 1993; 219-251.
- Rinken A, Harro J, Engstrom L, Orelund L. Role of fluidity of membranes on the guanyl nucleotide-dependent binding of cholecystokinin-8S to rat brain cortical membranes. *Biochem Pharmacol* 1998; 55(4):423-431.
- Riquelme G, Parra M. Regulation of human placental chloride channel by arachidonic acid and other cis unsaturated fatty acids. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180 (2 Pt 1): 469-475.
- Ritskes-Hoitinga J, Verschuren PM, Meijer GW, Wiersma A, van-der-Kooij AJ, Timmer WG, Blonk CG, Weststrate JA. The association of increasing dietary concentrations of fish oil with hepatotoxic effects and a higher degree of aorta atherosclerosis in the ad libitum fed rabbit. *Food and Chem Toxicol* 1998; 36 (8): 663-672, 13 ref.
- Robberecht P, Deschodt-Lanckman M, Camus J, Bruylants J, Christophe J. Rat pancreatic hydrolases from birth to weaning and dietary adaptation after weaning. *Am J Physiol* 1971; 221 (1): 376-381.
- Robberecht P, Tatemoto K, Chatelain P, Waelbroeck M, Delhayé M, Taton G, De Neef P, Camus JC, Heuse D, Christophe J. Effects of PHI on vasoactive intestinal peptide

- receptors and adenylate cyclase activity in lung membranes. A comparison in man, rat, mouse and guinea pig. *Regul Pept* 1982; 4 (5): 241-250.
- Roberts PJP, Whelan WJ. The mechanism of carbohydrase action. 5. Action of human salivary alpha-amylase on amylopectin and glycogen. *Biochem J* 1960; 76: 246-253.
- Robson SC, Daoud S, Begin M, Cote YP, Siegel JB, Bach FH, Beaudoin AR. Modulation of vascular ATP diphosphohydrolase by fatty acids. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1997; 8 (1): 21-27.
- Rogers EJ, Sabrah T, Hebert JR, Ausman LM, Hegsted DM, Nicolosi RJ. A comparison of serum retinol concentration between human and different species of normo and hypercholesterolemic nonhuman primates fed semi-purified diets with defined amounts of vitamin A. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol* 1993; 106 (4): 749-754.
- Rosa D, Catala A. Fatty acid profiles and non enzymatic lipid peroxidation of microsomes and mitochondria from bovine liver, kidney, lung and heart. *Arch Physiol Biochem* 1998; 106 (1): 33-37.
- Rosch T, Schusdziarra V, Wolf A, Classen M. Effects of CCK-8 in combination with natural or synthetic secretin on amylase, lipase, trypsin, and chymotrypsin secretion in rats. *Int J Pancreatol* 1989; 5 (3): 249-261.
- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362 (6423): 801-809.
- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: An update. *N Engl J Med* 1986; 314: 488-500.
- Rosselin G. The receptors of the VIP family peptides (VIP, secretin, GRF, PHI, PHM, GIP, glucagon and oxyntomodulin). Specificities and identity. *Peptides* 1986; 7 Suppl 1: S89-S100.
- Rosso D, Carnazzo G, Giarelli L, Motta L, Maugeri D. Atherosclerosis and pancreatic damage. *Arch Gerontol Geriatr* 2001; 32 (2): 95-100.
- Rothman SS. Independent secretion of different digestive enzymes by the pancreas. *Am J Physiol* 1976; 231: 1847-1851.
- Rothman SS. Molecular regulation of digestion: short-term and bond-specific. *Am J Physiol* 1974; 226: 77-83.
- Rothman SS, Liebow C. Permeability of zumogen granule membrane to protein. *Am J Physiol* 1985; 248 (4 Pt 1): G385-G392.
- Royce SM, Holmes RP. The saturation and isomerization of dietary fatty acids and the respiratory properties of rat heart mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1984; 792 (3): 371-375.
- Rozanova IA, Pogozeva AV, Kupakova SN, Lupinovich VL, Karagodina ZV, Levachev MM, Samsonov MA. Effect of antiatherosclerotic diet, containing polyunsaturated fatty acids of the omega-3 family from flax oil, on fatty acid composition of cell membranes of patients with ischemic heart disease. *Hypertensive disease and hyperlipoproteinemia. Vot Pitan* 1997; 5: 15-17.
- Rozengurt. Convergent signalling in the action of integrins, neuropeptides, growth factors and oncogenes. *Cancer Surveys. Vol 24: Cell Adhesion and Cancer* 1995; 81-96.
- Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Oxygen-derived free radicals, endothelium, and responsiveness of vascular smooth muscle. *Am J Physiol* 1986; 250 (5 Pt 2): H815-H821.
- Rudel LL, Haines J, Sawyer JK, Shah R, Wilson MS, Carr TP. Hepatic origin of cholesteryl oleate in coronary artery atherosclerosis in African green monkeys. Enrichment by dietary monounsaturated fat. *J Clin Invest* 1997; 100 (1): 74-83.

- Rudel LL, Kelley K, Sawyer JK, Shah R, Wilson MD. Dietary monounsaturated fatty acids promote aortic atherosclerosis in LDL receptor-null, human ApoB100-overexpressing transgenic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18 (11): 1818-1827.
- Rudel LL, Shah R, Greene DG. Study of the atherogenic dyslipoproteinemia induced by dietary cholesterol in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *J Lipid Res* 1979; 20 (1): 55-65.
- Rudel LL. Genetic factors influence the atherogenic response of lipoproteins to dietary fat and cholesterol in nonhuman primates. *J Am Coll Nutr* 1997; 16 (4): 306-312.
- Rugani N, Dezan C, De La Fourniere L, Cozzone PJ, Bellon B, Sarda L. Separation and characterization of the precursor and activated forms of porcine and human pancreatic colipase by reversed-phase liquid chromatography. *J Chromatogr* 1992; 583 (2): 246-253.
- Rugani N, de la Fourniere L, Julien R, Sarda L, Rathelot J. Immunochemical studies of pancreatic colipase-lipase interaction employing immobilized synthetic peptides. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 189 (3): 1374-1381.
- Ruiz-Gutiérrez V, Muriana FJG, Guerrero A, Cert AM, Villar J. Role of dietary oleic acid from two different sources on fatty acid composition of erythrocyte membrane and blood pressure in healthy subjects. *J Nutr Biochem* 1997; 8 (12): 689-695.
- Rumsey SC. Mechanism by which dietary fatty acids regulate human low-density lipoprotein metabolism. *Dissert Abstracts Inter (B)* 1994; 54 (12): 6139-6140.
- Ryan M, McInerney D, Owens D, Collins P, Johnson A, Tomkin GH. Diabetes and the Mediterranean diet: a beneficial effect of oleic acid on insulin sensitivity, adipocyte glucose transport and endothelium-dependent vasoreactivity. *QJM* 2000; 93 (2): 85-91.
- Sabb JE, Godfrey PM, Brannon PM. Adaptive response of rat pancreatic lipase to dietary fat: effects of amount and type of fat. *J Nutr* 1986; 116: 892-899.
- Sachinidis A, Liu M, Weber AA, Seul C, Hart V, Seewald S, Ko Y, Vetter H. Cholesterol enhances platelet-derived growth factor BB induced  $[Ca^{2+}]_i$  and DNA synthesis in rat aortic smooth muscle cells. *Hypertension* 1997; 29 (1 Pt 2): 326-333.
- Said SI. Vasoactive intestinal polypeptide (VIP): current status. *Peptides* 1984; 5 (2): 143-150.
- Said SI, Mutt V. Polypeptide with broad biological activity: isolation from small intestine. *Science Wash DC* 1970; 169: 1217-1218.
- Sajbidor J. Effect of some environmental factors on the content and composition of microbial membrane lipids. *Crit Rev Biotechnol* 1997; 17 (2): 87-103.
- Sakono M, Fukuyama T, Ni WH, Nagao K, Ju HR, Sato M, Sakata N, Iwamoto H, Imaizumi K. Comparison between dietary soybean protein and casein of the inhibiting effect on atherogenesis in the thoracic aorta of hypercholesterolemic (ExHC) rats treated with experimental hypervitamin D. *Biosci Biotechnol Biochem* 1997; 61 (3): 514-519.
- Salido GM, Gil MZ, Pariente JA, Pozo MJ, Madrid JA. Effects of pirenzepine on CCK-stimulated canine pancreatic exocrine secretion. *Gen Pharmacol* 1990; 21 (2): 195-198.
- Sametz W, Jeschek M, Juan H, Wintersteiger R. Influence of polyunsaturated fatty acids on vasoconstrictions induced by 8-iso-PGF<sub>2α</sub> and 8-iso-PGE<sub>2</sub>. *Pharmacology* 2000; 60 (3): 155-160.
- Sanderson IR, Naik S. Dietary regulation of intestinal gene expression. *Ann Rev Nutr* 2000; 20: 311-338.
- Sandoval J. Órganos metaperitoneales. Duodeno, páncreas y bazo. Configuración y dependencias. Riego sanguíneo, vasos linfáticos e inervación. Estudio comparativo. En:



- Anatomía Veterinaria. Vol. II. Ed: Sandoval. Imprenta moderna. Córdoba 1975; 115-120.
- Sansonetti A, Romeo H, Berthezene P, Scacchi P, Dusetti N, Keim V, Dagorn JC, Iovanna JL. Developmental, nutritional, and hormonal regulation of the pancreatitis-associated protein I and III gene expression in the rat small intestine. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30 (7): 664-669.
- Santanam N, Ramachandran S, Parthasarathy S. Oxygen radicals, antioxidants, and lipid peroxidation. *Semin Reprod Endocrinol* 1998; 16 (4): 275-280.
- Santiago-García J, Delgado-Coello BA, Mas-Oliva J. Thermal analysis of the plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase. *Mol Cell Biochem* 2000; 209 (1-2): 105-112.
- Santillo M, Mondola P, Milone A, Gioielli A, Bifulco M. Ascorbate administration to normal and cholesterol-fed rats inhibits in vitro TBARS formation in serum and liver homogenates. *Life Sci* 1996; 58 (14): 1101-1108.
- Saroux B, Girard-Globa A, Ouagued M, Vacher D. Response of the exocrine pancreas to quantitative and qualitative variations in dietary lipids. *Am J Physiol* 1982; 243: G10-G15.
- Sardesai VM. Role of antioxidants in health maintenance. *Nutr Clin Pract* 1995; 10(1): 19-25.
- Sarfeh IJ, Beeler DA, Treble DH, Balint JA. Studies of the hepatic excretory defects in essential fatty acid deficiency. Their possible relationship to the genesis of cholesterol gallstones. *J Clin Invest* 1974; 53 (2): 423-430.
- Sarkkinen ES, Agren JJ, Ahola I, Ovaskainen ML, Uusitupa MIJ. Fatty acid composition of serum cholesterol esters, and erythrocyte and platelet membranes as indicators of long-term adherence to fat modified diets. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 364-370.
- Sauberlich HE. Pharmacology of vitamin C. *Annu Rev Nutr* 1994; 14: 371-391.
- Savel'ev VS, Iablokov EG, Sergeeva NA, Petukhov VA, Dibirov AD, Kuznetsov MR. Dyslipoproteinemia in pancreonecrosis: cause-effect interrelationships. *Khirurgiia Mosk* 1995; 3: 23-26.
- Scarpello JH, Vinik AI, Owyang C. The intestinal phase of pancreatic polypeptide release. *Gastroenterology* 1982; 82 (3): 406-412.
- Schaffalitzky de Muckadell OB, Fahrenkrug J, Holst JJ, Lauritsen KB. Release of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) by intraduodenal stimuli. *Scand J Gastroenterol* 1977; 12: 793-799.
- Schick J, Verspohl R, Kern H, Scheele G. Two distinct adaptative responses in the synthesis of exocrine pancreatic enzymes to inverse changes in protein and carbohydrate in the diet. *Am J Physiol* 1984; 247 (6 Pt 1): G611-G616.
- Schieken RM. Hypertension and atherosclerosis in children. *Curr Opin Cardiol* 1994; 9 (1): 130-136.
- Schlienger JL, Goichot B, Pradignac A. Cholesterolemia and pathology: update. *Rev Med Interne* 1998; 19 (3): 180-184.
- Schmidt EB, Klausen IC, Kristensen SD, Lervang HH, Faergeman O, Dyerberg J. The effect of n-3 polyunsaturated fatty acids on Lp(a). *Clin Chim Acta* 1991; 198 (3): 271-277.
- Schmidt H, Lankisch PG. Fat necrosis - a cause of pancreatic parenchymal necrosis? *Digestion* 1978; 17 (1): 84-91.
- Schmidt K, Schrader M, Kern HF, Kleene R. Regulated apical secretion of zymogens in rat pancreas: involvement of the glycosylphosphatidylinositol-anchored glycoprotein gp-2,

- the lectin zgl6p, and cholesterol-glycosphingolipid-enriched microdomains. *J Biol Chem* 2001; 276 (17): 14315-14323.
- Schmidt K, Dartsch H, Linder D, Kern HF, Kleene R. A submembranous matrix of proteoglycans on zymogen granule membranes is involved in granule formation in rat pancreatic acinar cells. *J Cell Sci* 2000; 113 (Pt 12): 2233-2242.
- Schneeman BO, Chang I, Smith LB, Lyman RL. Effect of dietary amino acids, casein, and soybean trypsin inhibitor on pancreatic protein secretion in rats. *J Nutr* 1977; 107 (2): 281-288.
- Schnefel S, Profrock A, Hinsch KD, Schulz I. Cholecystokinin activates Gi1-, Gi2-, Gi3- and several Gs-proteins in rat pancreatic acinar cells. *Biochem J* 1990; 269 (2): 483-488.
- Schonfeld G, Patsch W, Rudel LL, Nelson C, Epstein M, Olson RE. Effects of dietary cholesterol and fatty acids on plasma lipoproteins. *J Clin Invest* 1982; 69 (5): 1072-1080.
- Schrock CG, Connor WE. Incorporation of the dietary trans fatty acid (C18:1) into the serum lipids, the serum lipoproteins and adipose tissue. *Am J Clin Nutr* 1975; 28 (9): 1020-1027.
- Schulz I, Streb H, Bayerdorffer E, Imamura K. Intracellular messengers in stimulus-secretion coupling of pancreatic acinar cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986; 8 (Suppl 8): S91-S96.
- Schulz I, Weske M. Influence of secretin and pancreozymin on electrolyte secretion in acini of rabbit pancreas. *Pflugers Arch* 1969; 307 (2): R86-R87.
- Schulz I. Electrolyte and fluid secretion in the exocrine pancreas. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. Ed: Johnson LR. Raven Press, New York, 1981; 795-819.
- Schwab US, Ausman LM, Vogel S, Li Z, Lammi-Keefe CJ, Goldin BR, Ordovas JM, Schaefer EJ, Lichtenstein AH. Dietary cholesterol increases the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification. *Atherosclerosis* 2000; 149 (1): 83-90.
- Schwartz TW, Rehfeld JF, Stadil F, Larson LI, Chance RE, Moon N. Pancreatic-polypeptide response to food in duodenal-ulcer patients before and after vagotomy. *Lancet* 1976; 1 (7969): 1102-1105.
- Schwartz TW. Pancreatic polypeptide: a hormone under vagal control. *Gastroenterology* 1983; 85 (6): 1411-1425.
- Schwenke DC, Behr SR. Vitamin E combined with selenium inhibits atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits independently of effects on plasma cholesterol concentrations. *Circ Res* 1998; 83 (4): 366-377.
- Scobey MW, Johnson FL, Parks JS, Rudel LL. Dietary fish oil effects on biliary lipid secretion and cholesterol gallstone formation in the African green monkey. *Hepatology* 1991; 14(4 Pt 1):679-84.
- Scollo P, Licitra G. Acute pancreatitis and pregnancy. *Minerva Ginecol* 1993; 45 (12): 643-646.
- Seiquer I. Modificaciones metabólicas lipídicas en mini-cerdos con adaptaciones alimenticias a largo plazo. Tesis Doctoral. Universidad de Granada, 1991.
- Seiquer I, Mañas M, Ballesta MC, Matáix FJ, Martínez-Victoria E. Effects of adaptation to dietary fat on fatty acid composition of serum and serum lipids in miniature swine. *Ann Nutr Metab* 1995; 39 (3): 193-202.
- Seiquer I, Mañas M, Martínez-Victoria E, Huertas JR, Ballesta MC, Matáix J. Effects of adaptation to diets enriched with saturated, monounsaturated and polyunsaturated fats on lipid and serum fatty acid levels in miniature swine (*Sus scrofa*). *Comp Biochem Physiol Comp Physiol* 1994; 108 (2-3): 377-386.

- Seiquer I, Martínez-Victoria E, Mañas M, Huertas JR, Ballesta MC, Matáix FJ. Long-term effects on lipid metabolism in miniature swine (*Sus scrofa*) of diets enriched in saturated, monounsaturated and polyunsaturated (N-6 and N-3) fatty acids. *Arch Physiol Biochem* 1996; 104 (1): 20-29.
- Seow KTF, Case RM, Young JA. Pancreatic secretion by the anesthetized rabbit in response to secretin, CCK and carbachol. *Pancreas* 1991; 6: 385-391.
- Seres I, Freyss-Beguín M, Mohacsi A, Kozlovsky B, Simon J, Devynck MA, Fulop T Jr. Alteration of lymphocyte membrane phospholipids and intracellular free calcium concentrations in hyperlipidemic subjects. *Atherosclerosis* 1996; 121 (2): 175-183.
- Serrano P, Yago MD, Mañas M, Calpena R, Matáix, J, Martínez-Victoria E. Influence of type of dietary fat (olive and sunflower oil) upon gastric acid secretion and release of gastrin, somatostatin, and peptide YY in man. *Dig Dis Sci* 1997; 42 (3): 626-633.
- Sessions VA, Salter AM. Low density lipoprotein binding to monolayer cultures of hepatocytes isolated from hamsters fed different dietary fatty acids. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1258 (1): 61-69.
- Sessler AM, Ntambi JM. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *J Nutr* 1998; 128 (6): 923-926.
- Sewell WA, Young JA. Secretion of electrolytes by the pancreas of the anaesthetized rat. *J Physiol* 1975; 252 (2): 379-396.
- Shaish A, Daugherty A, O'Sullivan F, Schonfeld G, Heinecke JW. Beta-carotene inhibits atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *J Clin Invest* 1995; 96 (4): 2075-2082.
- Shaish A, George J, Gilburd B, Keren P, Levkovitz H, Harats D. Dietary beta-carotene and alpha-tocopherol combination does not inhibit atherogenesis in an ApoE-deficient mouse model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19 (6): 1470-1475.
- Shears SB. The pathway of myo-inositol 1,3,4-trisphosphate phosphorylation in liver. Identification of myo-inositol 1,3,4-trisphosphate 6-kinase, myo-inositol 1,3,4-trisphosphate 5-kinase, and myo-inositol 1,3,4,6-tetrakisphosphate 5-kinase. *J Biol Chem* 1989; 264 (33): 19879-19886.
- Shechter EJ, Letellier LY. Effect of the unsaturation of lipids fatty acids on the structure and function of the cytoplasmic membranes of *E.coli*. *Ann Nutr Aliment* 1980; 34 (2): 229-240.
- Shibata T, Hayakawa T, Kondo T, Sugimoto Y, Kitagawa M. Effect of atropin on responses of exocrine pancreas and plasma CCK to intraduodenal amino acids in dogs. *J Gastroenterol Hepatol* 1988; 3:451-456.
- Shimizu K, Kato Y, Shiratori K, Ding Y, Song Y, Furlanetto R, Chang TM, Watanabe S, Hayashi N, Kobayashi M, Chey WY. Evidence for the existence of CCK-producing cells in rat pancreatic islets. *Endocrinology* 1998; 139 (1): 389-396.
- Shimizu K, Shiratori K, Sakayori N, Kobayashi M, Hayashi N. Expression of cholecystokinin in the pancreas during development. *Pancreas* 1999; 19 (1): 98-104.
- Shinkai M, Takeyama Y, Ueda T, Hori Y, Yamamoto M. Inhibitory action of sphingosine or ceramide on amylase secretion from isolated rat pancreatic acini. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 235 (1): 197-200.
- Shiratoki K, Lee KY, Chang TM, Jo YH, Coy DH, Chey WY. Role of pancreatic polypeptide in the regulation of pancreatic exocrine secretion in dogs. *Am J Physiol* 1988; 255 (5 Pt 1): G535-G541.

- Shiratori K, Jo YH, Lee KY, Chang TM, Chey WY. Effect of pancreatic juice and trypsin on oleic acid-stimulated pancreatic secretion and plasma secretin in dogs. *Gastroenterology* 1989; 96 (5 Pt 1): 1330-1336.
- Shiratori K, Watanabe S, Takeuchi T. Somatostatin analog, SMS 201-995, inhibits pancreatic exocrine secretion and release of secretin and cholecystokinin in rats. *Pancreas* 1991; 6 (1): 23-30.
- Shohat J, Boner G. Role of lipids in the progression of renal disease in chronic renal failure: evidence from animal studies and pathogenesis. *Isr J Med Sci* 1993; 29 (4): 228-239.
- Siedel J, Hagele EO, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clin Chem* 1983; 29(6):1075-80.
- Siegmund E, Jonas L, Dummmler W, Kading U, Kesting S. Correlation between acinar cell fat accumulation and secretory capacity of the rat pancreas in the early stage of alcohol-induced pancreatopathy. *Z Gastroenterol* 1992; 30 (6): 385-390.
- Simkiss K. Cell membranes; barriers, regulators and transducers? *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 1998; 120 (1): 17-22.
- Simoes Nunes C. Adaptation of pancreatic lipase to the amount and nature of dietary lipids in the growing pig. *Reprod Nutr Dev* 1986; 26 (6): 1273-1280.
- Simoes Nunes C, Corring T. Effects on exocrine pancreatic secretion in swine of the prolonged intravenous administration of glucose: application to the study of dietary adaptation mechanisms. *Reprod Nutr Dev* 1981; 21 (5A): 705-714. Simoes-Nunes, C. Adaptation de la secretion pancreatique exocrine du vison a la composition du regimen alimentaire. *Reprod Nutr Dev* 1985; 25: 810.
- Simon MI, Strathmann MP, Gautam N. Diversity of G proteins in signal transduction. *Science* 1991; 252: 802-808.
- Simopoulos P. The role of fatty acids in gene expression: health implications. *Ann Nutr Metab* 1996; 40 (6): 303-311.
- Singer MV, Solomon TE, Rammert H, Caspary F, Niebel W, Goebell H, Grossman MI. Effect of atropine on pancreatic response to HCl and secretin. *Am J Physiol* 1981; 240 (5): G376-G380.
- Singh J, Wisdom DM. Second messenger role of magnesium in pancreatic acinar cells of the rat. *Mol Cell Biochem* 1995; 149-150: 175-182.
- Singh J, Lennard R, Salido GM, Wisdom D, Render CL, Pozo MJ, Pariente JA, Camello PJ. Interaction between secretin and cholecystokinin-octapeptide in the exocrine rat pancreas in vivo and in vitro. *Exp Physiol* 1992; 77 (1): 191-204.
- Singh M, Webster PD. Neurohormonal control of pancreatic secretion. *Gastroenterology* 1978; 74: 294-309.
- Singh RB, Niaz MA. Serum concentration of lipoprotein(a) decreases on treatment with hydrosoluble coenzyme Q10 in patients with coronary artery disease: discovery of a new role. *Int J Cardiol* 1999; 68 (1): 23-29.
- Singh RB, Shinde SN, Chopra RK, Niaz MA, Thakur AS, Onouchi Z. Effect of coenzyme Q10 on experimental atherosclerosis and chemical composition and quality of atheroma in rabbits. *Atherosclerosis* 2000; 148 (2): 275-282.
- Singh RB, Sircar AR, Singh RG, Mani UV, Seth J, Devi L. Dietary modulators of lipid metabolism in the Indian diet-heart study (I.D.H.S.). *Int J Vitam Nutr Res* 1992; 62 (1): 73-82.

- Sjaastad MD, Nelson WJ. Integrin-mediated calcium signaling and regulation of cell adhesion by intracellular calcium. *Bioessays* 1997; 19 (1): 47-55.
- Slot JW, Geuze JJ. A morphometrical study of the exocrine pancreatic cell in fasted and fed frogs. *J Cell Biol* 1979; 80 (3) : 692-707.
- Smit MJ, Kuipers F, Vonk RJ, Temmerman AM, Jackle S, Windler EE. Effects of dietary cholesterol on bile formation and hepatic processing of chylomicron remnant cholesterol in the rat. *Hepatology* 1993; 17 (3): 445-454.
- Smit MJ, Verkade HJ, Havinga R, Vonk RJ, Scherphof GL, In 't Veld G, Kuipers F. Dietary fish oil potentiates bile acid-induced cholesterol secretion into bile in rats. *J Lipid Res* 1994; 35 (2): 301-310.
- Smith AD, Stubbs CD. Modulation of membrane protein function by bilayer lipids. *Basic Res Cardiol* 1987; 82 Suppl 1: S93-S97.
- Snook JT. Dietary regulation of pancreatic enzymes in the rat with emphasis on carbohydrate. *Am J Physiol* 1971; 221 (5): 1383-1387.
- Snook JT, DeLany JP, Vivian VM. Effect of moderate to very low fat defined formula diets on serum lipids in healthy subjects. *Lipids* 1985; 20 (11): 808-816.
- Sofrankova A. Effect of pectin on the function of the rat exocrine pancreas. *Physiol Bohemoslov* 1986; 35 (3): 281-284.
- Solomon MB, Lynch GP, Lough DS. Influence of dietary palm oil supplementation on serum lipid metabolites, carcass characteristics, and lipid composition of carcass tissues of growing ram and ewe lambs. *J Anim Sci* 1992; 70 (9): 2746-2751.
- Solomon T.E. Control of exocrine pancreatic secretion. En: Johnson, L.R.: *Physiology of the gastrointestinal tract*. Ed. New York, Raven Press 1987; 1173-1207.
- Solomon T.E. Control of exocrine pancreatic secretion. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 3<sup>a</sup> ed. Ed: Johnson. Raven Press. New York 1994; 1499-1530.
- Solomon TE, Petersen H, Elashoff J, Grossman MI. Interaction of caerulein and secretin on pancreatic size and composition in rat. *Am J Physiol* 1978; 235 (6): E714-E719.
- Sommer H, Kasper H. Dietary effects on pancreatic exocrine function. Experiments on the isolated perfused rat pancreas. *Ann Nutr Metab* 1981; 25 (6): 381-388.
- Sommer H, Kasper H. Effect of long term administration of dietary fiber on the exocrine pancreas in the rat. *Hepato gastroenterol* 1984; 31: 176-179.
- Song W, Yamaguchi H, Nakano I, Kimura T, Nawata H. Role of endogenous cholecystokinin in the regeneration of pancreatic tissue after acute hemorrhagic pancreatitis in rats. *Fukuoka Igaku Zasshi* 1996; 87 (1): 14-22.
- Soriani M, Spaans MC, Tobler M, Freiburghaus AU. Nucleoside phosphatase activities on pig pancreas zymogen granule membranes analyzed by non-denaturing polyacrylamide gel electrophoresis. *Int J Biochem Cell Biol* 1995; 27 (10): 1043-1054.
- Soriguer FJ, Tinahones FJ, Monzon A, Pareja A, Rojo-Martinez G, Moreno F, Esteva I, Gomez-Zumaquero JM. Varying incorporation of fatty acids into phospholipids from muscle, adipose and pancreatic exocrine tissues and thymocytes in adult rats fed with diets rich in different fatty acids. *Eur J Epidemiol* 2000; 16(6):585-594.
- Spady DK, Dietschy JM. Dietary saturated triacylglycerols suppress hepatic low density lipoprotein receptor activity in the hamster. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82 (13): 4526-4530.

- Spady DK, Dietschy JM. Interaction of dietary cholesterol and triglycerides in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster. *J Clin Invest* 1988; 81 (2): 300-309.
- Spady DK, Horton JD, Cuthbert JA. Regulatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on hepatic LDL uptake in the hamster and rat. *J Lipid Res* 1995; 36 (5): 1009-1020.
- Spangenberg HC. The patient with isolated pancreatic enzyme elevation. *Schweiz Rundsch Med Prax* 1998; 87 (46): 1575-1578.
- Spannagel AW, Nakano I, Tawil T, Chey WY, Liddle RA, Green GM. Adaptation to fat markedly increases pancreatic secretory response to intraduodenal fat in rats. *Am J Physiol* 1996; 270 (1 Pt 1): G128-G135.
- Spector AA, Yorek MA. Membrane lipid composition and cellular function. *J Lipid Res* 1985; 26: 1015-1035.
- Spiegel AM. Structure and identification of G-proteins: isolation and purification. En: "G proteins as mediators of cellular signalling processes. Molecular pharmacology of cell regulation". Vol I. Ed: Houslay and Milligan. John Wiley & Sons, Chichester 1990; 15-30.
- Srivastava RA, Ito H, Hess M, Srivastava N, Schonfeld G. Regulation of low density lipoprotein receptor gene expression in HepG2 and Caco2 cells by palmitate, oleate, and 25-hydroxycholesterol. *J Lipid Res* 1995; 36 (7): 1434-1446.
- Srivastava RA. Regulation of the apolipoprotein E by dietary lipids occurs by transcriptional and post-transcriptional mechanisms. *Mol Cell Biochem* 1996; 155 (2): 153-162.
- Srivastava RA, Jiao S, Tang JJ, Pflieger BA, Kitchens RT, Schonfeld G. In vivo regulation of low-density lipoprotein receptor and apolipoprotein B gene expressions by dietary fat and cholesterol in inbred strains of mice. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1086 (1): 29-43.
- Stadil F, Rehfeld J. Release of gastrin by epinephrine in man. *Gastroenterology* 1973; 65: 210-215.
- Stalenhoef AF. Serum triglycerides as a risk factor for atherosclerosis. *Ned Tijdschr Geneesk* 1999; 143 (6): 284-287.
- Starc TJ, Shea S, Cohn LC, Mosca L, Gersony WM, Deckelbaum RJ. Greater dietary intake of simple carbohydrate is associated with lower concentrations of high-density-lipoprotein cholesterol in hypercholesterolemic children. *Am J Clin Nutr* 1998; 67 (6): 1147-1154. Comment in: *Am J Clin Nutr* 1998; 67 (6): 1106-1107.
- Steiner JM, Williams DA. Serum feline trypsin-like immunoreactivity in cats with exocrine pancreatic insufficiency. *J Vet Intern Med* 2000; 14 (6): 627-629.
- Stenson WF, Lobos E. Metabolism of arachidonic acid by pancreatic acini: relation to amylase secretion. *Am J Physiol* 1982; 242 (5): G493-G497.
- Stenson WF, Seetharam B, Talkad V, Pickett W, Dudeja P, Brasitus TA. Effects of dietary fish oil supplementation on membrane fluidity and enzyme activity in rat small intestine. *Biochem J* 1989; 263 (1): 41-45.
- Sternby NH. Atherosclerosis in a defined population. An autopsy survey in Malmo, Sweden. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1968; Suppl 194: S5.
- Stevenson FT, Kaysen GA. Hyperlipidemia and renal disease: the use of animal models in understanding pathophysiology and approaches to treatment. *Wien Klin Wochenschr* 1999; 111 (8): 307-314.
- Stillwell W, Jenki LJ, Crump FT, Ehringer W. Effect of docosahexaenoic acid on mouse mitochondrial membrane properties. *Lipids* 1997; 32 (5): 497-506.

- Stock-Damge C, Bouchet P, Dentinger A, Aprahamian M, Grenier JF. Effect of dietary fiber supplementation on the secretory function of the exocrine pancreas in the dog. *Am J Clin Nutr* 1983; 38 (6): 843-848.
- Stockmann F, Soling HD. Regulation of biosynthesis of trypsinogen and chymotrypsinogen by nutritional and hormonal factors in the rat. *Eur J Clin Invest* 1981; 11 (2 Suppl 1): S121-S132.
- Stone NJ. Secondary causes of hyperlipidemia. *Med Clin North Am* 1994; 78 (1): 117-141.
- Stout RW. Insulin and atherogenesis. *Eur J Epidemiol* 1992; 8 (Suppl 1): S134-S135.
- Streb H, Irvine RF, Berridge MJ, Schulz I. Release of Ca<sup>2+</sup> from a nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by inositol-1,4,5-trisphosphate. *Nature* 1983; 306 (5938): 67-69.
- Stubbs RS, Stabile BE. Role of cholecystokinin in pancreatic exocrine response to intraluminal amino acids and fat. *Am J Physiol* 1985; 248 (3 Pt 1): G347-G352.
- Stubbs RS, Stabile MD. Inhibition of the stimulated canine exocrine pancreas by aminoacids and fat. *Arch Surg* 1989; 124: 473-478.
- Suarez A, Ramírez MC, Faus MJ, Gil A. Dietary long-chain polyunsaturated fatty acids influence tissue fatty acid composition in rats at weaning. *J Nutr* 1996; 126 (4): 887-897.
- Subczynski WK, Wisniewska A. Physical properties of lipid bilayer membranes: relevance to membrane biological functions. *Acta Biochim Pol* 2000; 47 (3): 613-625.
- Sullivan MP, Cerda JJ, Robbins FL, Burgin CW, Beatty RJ. The gerbil, hamster, and guinea pig as rodent models for hyperlipidemia. *Lab Anim Sci* 1993; 43 (6): 57557-57558.
- Sumida C, Graber R, Nuñez E. Role of fatty acids in signal transduction: modulators and messengers. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1993; 48 (1): 117-122.
- Sun J, Giraud DW, Moxley RA, Driskell JA. beta-Carotene and alpha-tocopherol inhibit the development of atherosclerotic lesions in hypercholesterolemic rabbits. *Int J Vitam Nutr* 1997; 67 (3): 155-163.
- Sundler F, Alumets J, Hakanson R, Fahrenkrug J, Schaffalitzky de Muckadell O. Peptidergic (VIP) nerves in the pancreas. *Histochemistry* 1978; 55 (2): 173-176.
- Sundram K, Hayes KC, Siru OH. Dietary palmitic acid results in lower serum cholesterol than does a lauric-myristic acid combination in normolipidemic humans. *Am J Clin Nutr* 1994; 59 (4): 841-846.
- Sunshine C, McNamee MG. Lipid modulation of nicotinic acetylcholine receptor function: the role of membrane lipid composition and fluidity. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1191(1):59-64.
- Sunshine C, McNamee MG. Lipid modulation of nicotinic acetylcholine receptor function: the role of membrane lipid composition and fluidity. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1191 (1): 59-64.
- Swanson KC, Matthews JC, Matthews AD, Howell JA, Richards CJ, Harmon DL. Dietary carbohydrate source and energy intake influence the expression of pancreatic alpha-amylase in lambs. *J Nutr* 2000; 130 (9): 2157-2165.
- Tahin QS, Blum M, Carafoli E. The fatty acid composition of subcellular membranes of rat liver, heart, and brain: diet-induced modifications. *Eur J Biochem* 1981; 121 (1): 5-13.
- Takaori K, George T, Blevins Jr, Nishikawa M, Chowdhury P, Rayford PL. Effects of diet on cholecystokinin-stimulated amylase secretion by pancreatic acini and amylase mRNA levels in rat pancreas. *Pancreas* 1995; 11 (4): 402-407.

- Takatsuka N, Nagata C, Kurisu Y, Inaba S, Kawakami N, Shimizu H. Hypcholesterolemic effect of soymilk supplementation with usual diet in premenopausal normolipidemic Japanese women. *Prev Med* 2000; 31(4):308-314.
- Talavera EM, Zafra MF, Gil-Villarino A, Perez MI, Alvarez-Pez JM, Garcia-Peregrin E. Changes in chemical composition and physico-chemical properties of chick low- and high-density lipoproteins induced by supplementation of coconut oil to the diet. *Biochimie* 1997; 79 (6): 333-340.
- Tanaka T, Ichiba Y, Fujii Y, Itoh H, Kodama O, Dohi K. New canine model of chronic pancreatitis due to chronic ischemia with incomplete pancreatic duct obstruction. *Digestion* 1988; 41 (3): 149-155.
- Tanaka T, Ichiba Y, Miura Y, Ito H, Dohi K. Canine model of chronic pancreatitis due to chronic ischemia. *Digestion* 1994; 55 (2): 86-89.
- Taylor IL, Impicciatore M, Carter DC, Walsh JH. Effect of atropine and vagotomy on pancreatic polypeptide response to a meal in dogs. *Am J Physiol* 1978; 235 (4): E443-E447.
- Taylor IL, Solomon TE, Walsh JH, Grossman MI. Pancreatic polypeptide. Metabolism and effect on pancreatic secretion in dogs. *Gastroenterology* 1979; 76 (3): 524-528.
- Tchoua U, Ito M, Okamoto M, Tojo H. Increased intestinal phospholipase A(2) activity catalyzed by phospholipase B/lipase in WBN/Kob rats with pancreatic insufficiency. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1487 (2-3): 255-267.
- Temme EH, Mensink RP, Hornstra G. Effects of medium chain fatty acids (MCFA), myristic acid, and oleic acid on serum lipoproteins in healthy subjects. *J Lipid Res* 1997; 38 (9): 1746-1754.
- Temple ME, Luzier AB, Kazierad DJ. Homocysteine as a risk factor for atherosclerosis. *Ann Pharmacother* 2000; 34 (1): 57-65.
- Tentolouris C, Tousoulis D, Goumas G, Stefanadis C, Davies G, Totouzas P. L-Arginine in coronary atherosclerosis. *Int J Cardiol* 2000; 75 (2-3): 123-128.
- Terpstra AHM, van den Berg P, Jansen H, Beynen AC, van Tol A. Decreasing dietary fat saturation lowers HDL-cholesterol and increases hepatic HDL binding in hamsters. *Br J Nutr* 2000; 83 (2): 151-159.
- Thevenod F, Braun M, Roussa E, Fuller CM. Molecular characterisation of pancreatic zymogen granule ion channel and regulator proteins involved in exocytosis. *J Korean Med Sci* 2000; 15 Suppl: S51-S52.
- Thewke D, Kramer M, Sinensky MS. Transcriptional homeostatic control of membrane lipid composition. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 273 (1): 1-4.
- Thomassen MS, Rortveit T, Christiansen EN, Norum KR. Changes in the content of n-6 fatty acids in liver phospholipids in rats as a consequence of partially hydrogenated dietary oils. *Br J Nutr* 1984; 51 (3): 315-322.
- Thomsen C, Rasmussen O, Lousen T, Holst JJ, Fenselau S, Schrezenmeir J, Hermansen K. Differential effects of saturated and monounsaturated fatty acids on postprandial lipemia and incretin responses in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1999; 69 (6): 1135-1143.
- Thomson AB. Influence of dietary modifications on uptake of cholesterol, glucose, fatty acids, and alcohols into rabbit intestine. *Am J Clin Nutr* 1982; 35: 556-565.
- Ting HH, Timimi FK, Haley EA, Roddy MA, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans with hypercholesterolemia. *Circulation* 1997; 95 (12): 2617-2622.



- Tinker LF, Parks EJ, Behr SR, Schneeman BO, Davis PA. (n-3) Fatty acid supplementation in moderately hypertriglyceridemic adults changes postprandial lipid and lipoprotein B responses to a standardized test meal. *J Nutr* 1999; 129 (6): 1126-1134.
- Toda T, Leszczynski DE, Kummerow FA. The role of 25-hydroxy-vitamin D3 in the induction of atherosclerosis in swine and rabbit by hypervitaminosis D. *Acta Pathol Jpn* 1983; 33 (1): 37-44.
- Tokura T, Ito S, Nishikawa M, Yamane A, Miki H. Changes in Bruch's membrane in experimental hypercholesterolemia in rats. *Nippo Gankai Zasshi* 1999; 103 (2): 85-91.
- Tomasetti M, Littarru GP, Stocker R, Alleva R. Coenzyme Q10 enrichment decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Free Radic Biol Med* 1999; 27 (9-10): 1027-1032.
- Torkhovskaia TI, Artemova LG, Khodzhakuliev BG, Rudenko TS, Polesskii VA. Structural and functional changes in erythrocyte membranes in experimental atherosclerosis. *Biull Eksp Biol Med* 1980; 89 (6): 675-678.
- Torrens JK, McWhinney PH. Acute pancreatitis. Normal serum amylase does not exclude severe acute pancreatitis. *BMJ* 1998; 316 (7119): 1982-1983. Comment on: *BMJ* 1998; 316 (7124): 44-48.
- Tranberg KG, Tabata K, Chen MH, Murphy RF, Fischer JE, Joffe SN. Release of secretin immunoreactivity from the ileum. *Ann Surg* 1985; 201 (3): 300-304.
- Trautwein EA, Liang J, Hayes KC. Cholesterol gallstone induction in hamsters reflects strain differences in plasma lipoproteins and bile acid profiles. *Lipids* 1993; 28 (4): 305-312.
- Trautwein EA, Kunath-Rau A, Dietrich J, Drusch S, Erbersdobler HF. Effect of dietary fats rich in lauric, myristic, palmitic, oleic or linoleic acid on plasma, hepatic and biliary lipids in cholesterol-fec hamsters. *Br J Nutr* 1997; 77 (4): 605-620.
- Trieu VN, Uckun FM. Low density lipoprotein (LDL)-mediated suppression of Lewis lung carcinoma in hypercholesterolemic LDL receptor-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 255 (2): 377-381.
- Trinca L, Popescu O, Palamaru I. Serumlipid picture of rabbits fed on silicate-supplemented atherogenic diet. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 1999; 103 (1-2): 99-102.
- Trinder P. Determination of blood glucose using 4-amino phenazone as oxygen acceptor. *J Clin Pathol* 1969; 22(2):246.
- Triscari J, Hamilton JG, Sullivan AC. Comparative effects of saturated and unsaturated lipids on hepatic lipogenesis and cholesterologenesis in vivo in the meal-fed rat. *J Nutr* 1978; 108 (5): 815-825.
- Trudell JR, Costa AK, Csernansky CA. Inhibition of protein kinase C phosphorylation by mono and divalent cations. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 162 (1): 45-50.
- Tsai A, Cowan MR, Johnson DG, Brannon PM. Regulation of pancreatic amylase and lipase gene expression by diet and insulin in diabetic rats. *Am J Physiol* 1994 Oct; 267 (4 Pt 1): G575-G583.
- Tseng HC, Grendell JH, Rothman SS. Food, duodenal extracts and enzyme secretion by the pancreas. *Am J Physiol* 1982; 243 (Gastrointest. Liver Physiol. 6): G304-G312.
- Tsuchihashi H, Kigoshi M, Iwatsuki M, Niki E. Action of beta-carotene as an antioxidant against lipid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 1995; 323 (1): 137-147.
- Tsukamoto K, Tangirala RK, Chun S, Usher D, Pure E, Rader DJ. Hepatic expression of apolipoprotein E inhibits progression of atherosclerosis without reducing cholesterol levels in LDL receptor-deficient mice. *Mol Ther* 2000; 1 (2): 189-194.

- Tsunoda Y, Owyang C. High-affinity CCK receptors are coupled to phospholipase A2 pathways to mediate pancreatic amylase secretion. *Am J Physiol* 1995; 269 (3 Pt 1): G435-G444.
- Tsunoda Y. Receptor-operated Ca<sup>2+</sup> signaling and crosstalk in stimulus secretion coupling. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1154 (2): 105-156.
- Tsuzuki S, Fushiki T, Kondo A, Murayama H, Sugimoto E. Effect of a high-protein diet on the gene expression of a trypsin-sensitive, cholecystokinin-releasing peptide (monitor peptide) in the pancreas. *Eur J Biochem* 1991; 199 (1): 245-252.
- Turini ME, Thomson AB, Clandinin MT. Lipid composition and peroxide levels of mucosal cells in the rat large intestine in relation to dietary fat. *Lipids* 1991 Jun; 26 (6): 431-440.
- Turini ME, Powell WS, Behr SR, Holup BJ. Effects of a fish oil and vegetable oil formula on aggregation and ethanolamine-containing lysophospholipid generation in activated human platelets and on leukotriene production in stimulated neutrophils. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 717-724.
- Turley SD, Dietschy JM. Regulation of biliary cholesterol output in the rat: dissociation from the rate of hepatic cholesterol synthesis, the size of the hepatic cholesteryl ester pool, and the hepatic uptake of chylomicron cholesterol. *J Lipid Res* 1979; 20 (8): 923-934.
- Turley SD, Spady DK, Dietschy JM. Alteration of the degree of biliary cholesterol saturation in the hamster and rat by manipulation of the pools of preformed and newly synthesized cholesterol. *Gastroenterology* 1983; 84 (2): 253-264.
- Turpein AM, Basu S, Mutanen M. A high linoleic acid diet increases oxidative stress in vivo and affects nitric oxide metabolism in humans. *Lipids* 1999; 34: S291-S292.
- Uchida T, Tsuchiya R, Harada N, Tsunoda T, Yamaguchi T, Eto T, Furukawa M. Ischemic changes in the pancreas of Watanabe heritable hyper-lipidemic (WHHL) rabbits. *Int J Pancreatol* 1988; 3 (4): 261-271.
- Ugolev AM, Gruzdkov AA, Zil'ber IuD, Iezuitova NN, Timofeeva NM. Interrelationships between the enzymatic functions of the pancreas and small intestine during adaptive processes. *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova* 1978; 64 (9): 1217-1228.
- Umemura U, Ishimori M, Watanabe S, Iso H, Shimamoto T, Koike KA, Kobayashi T, Iida M. Effects of intake of fish rich in n-3 polyunsaturated fatty acid on serum lipids, serum fatty acid component and hemostatic factors. *Journal of Japanese Society of Nutrition and Food Science* 2000; 53 (1): 1-9.
- Vagne M, Grossman MI. Gastric and pancreatic secretion in response to gastric distention in dogs. *Gastroenterology* 1969; 57 (3): 300-310.
- Valenzuela JE, Defilipi C, Diaz G, Navia E, Merino Y. Effect of dopamine on human gastric and pancreatic secretion. *Gastroenterology* 1979; 76: 323-326.
- Valette P, Malouin H, Corring T, Savoie L, Gueugneau AM, Berot S. Effects of diets containing casein and rapeseed on enzyme secretion from the exocrine pancreas in the pig. *Br J Nutr* 1992; 67 (2): 215-222.
- Van de Vijver LP, Weber C, Kardinaal AF, Grobbee DE, Princen HM, van Poppel G. Plasma coenzyme Q10 concentrations are not decreased in male patients with coronary atherosclerosis. *Free Radic Res* 1999; 30 (3): 165-172.
- Van de Vrie W, Baggen MG, Janssen IM, Ouwendijk RJ. Acute pancreatitis caused by chylomicronemia syndrome. *Ned Tijdschr Geneesk* 1996; 140 (1): 34-36.
- Van Noorden CJ. Effects of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acid-enriched diets on lipid metabolism in periportal and pericentral compartments of female rat liver lobules and

- the consequences for cell proliferation after partial hepatectomy. *J Lipid Res* 1995; 36 (8): 1708-1720.
- van Venrooij WJ, Poort C. Rate of protein synthesis and polyribosome formation in the frog pancreas after fasting and feeding. *Biochim Biophys Acta* 1971; 247 (3): 468-470.
- Van-Aerde JE, Keelan M, Clandinin MT, Thomson AB. Lipids in total parenteral nutrition solutions differentially modify lipids in piglet intestinal brush border and microsomal membranes. *JPEN: J Parenter Enteral Nutr* 1997; 21 (2): 63-71.
- Vanhanen HT, Kajander J, Lehtovirta H, Miettinen TA. Serum levels, absorption efficiency, faecal elimination and synthesis of cholesterol during increasing doses of dietary sitostanol esters in hypercholesterolaemic subjects. *Clin Sci (Colch)* 1994; 87 (1): 61-67.
- Vatn MH, Schrupf E, Hanssen KF, Myren J. A small dose of somatostatin inhibits the secretin stimulated secretion of bicarbonate, amylase, and chymotrypsin in man. *J Endocrinol Invest* 1980; 3 (3): 279-282.
- Vavilova HL, Prokopenko OM, Kharlamova OM, Sahach VF. The participation of L-arginine in correcting the activity of the membrane-transport enzymes Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> and Na<sup>+</sup>-ATPases in experimental hypercholesterolemia. *Fiziol Zh* 2000; 46 (1): 25-31.
- Vaysse N, Laval J, Senarens C, Esteve JP, Ribet A. Dopamin-stimulated cAMP and binding of [<sup>3</sup>H] dopamine in acini from dog pancreas. *Biochim Biophys Acta* 1982; 720: 378-383.
- Venkatraman JT, Angkeow P, Satsangi N, Fernandes G. Effects of dietary n-6 and n-3 lipids on antioxidant defense system in livers of exercised rats. *J Am Coll Nutr* 1998; 17 (6): 586-594.
- Venkatraman JT, Chandrasekar B, Kim JD, Fernandes G. Effects of n-3 and n-6 fatty acids on the activities and expression of hepatic antioxidant enzymes in autoimmune-prone NZBxNZW F1 mice. *Lipids* 1994; 29 (8): 561-568.
- Vessby B. Dietary fat and insulin action in humans. *Br J Nutr* 2000; 83 Suppl 1: S91-S96.
- Vicario IM, Malkova D, Lund EK, Johnson IT. Olive oil supplementation in healthy adults: effects in cell membrane fatty composition and platelet function. *Ann Nutr Metab* 1998; 42 (3): 160-169.
- Vidgren HM, Agren JJ, Schwab U, Rissanen T, Hanninen O, Uusitupa MI. Incorporation of n-3 fatty acids into plasma lipid fractions, and erythrocyte membranes and platelets during dietary supplementation with fish, fish oil, and docosahexaenoic acid-rich oil among healthy young men. *Lipids* 1997; 32 (7): 697-705.
- Vissers RJ, Abu-Laban RB, McHugh DF. Amylase and lipase in the emergency department evaluation of acute pancreatitis. *J Emerg Med* 1999; 17 (6): 1027-1037.
- Vogel RA, Corretti MC, Gellman J. Cholesterol, cholesterol lowering, and endothelial function. *Prog Cardiovasc Dis* 1998; 41 (2): 117-136.
- Vognild E, Elvevoll EO, Brox J, Olsen RL, Barstad H, Aursand M, Osterud B. Effects of dietary marine oils and olive oil fatty acid composition, platelet membrane fluidity, platelet responses, and serum lipids in healthy humans. *Lipids* 1998; 33 (4): 427-436.
- Vossen RC, van Dam-Mieras MC, Hornstra G, Zwaal RF. Differential effects of endothelial cell fatty acid modification on the sensitivity of their membrane phospholipids to peroxidation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1995; 52 (5): 341-347.
- Vu MK, Verkijk M, Muller ES, Biemond I, Lamers CB, Masclee AA. Medium chain triglycerides activate distal but not proximal gut hormones. *Clin Nutr* 1999; 18 (6): 359-363.

- Wagner AC, Williams JA. Pancreatic zymogen granule membrane proteins: molecular details begin to emerge. *Digestion* 1994; 55 (4): 191-199.
- Wakasugi M, Noguchi T, Inoue M, Kazama Y, Tawata M, Kanemaru Y, Onaya T. Vitamin D3 stimulates the production of prostacyclin by vascular smooth muscle cells. *Prostaglandins* 1991; 42 (2): 127-136.
- Wakui M, Osipchuk YV, Petersen OH. Receptor-activated cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> spiking mediated by inositol trisphosphate is due to Ca<sup>2+</sup>(+)-induced Ca<sup>2+</sup> release. *Cell* 1990; 63 (5): 1025-1032.
- Walker LC, Parker CA, Lipinski WJ, Callahan MJ, Carroll RT, Gandy SE, Smith JD, Jucker M, Bisgaier CL. Cerebral lipid deposition in aged apolipoprotein-E-deficient mice. *Am J Pathol* 1997; 151 (5): 1371-1377.
- Wallace AJ, Humphries SE, Fisher RM, Mann JI, Chisholm A, Sutherland WH. Genetic factors associated with response of LDL subfractions to change in the nature of dietary fat. *Atherosclerosis* 2000; 149 (2): 387-394.
- Walsh JH. Gastrointestinal hormones. En: "Physiology of the gastrointestinal tract". Ed. Johnson. Raven Press, New York 1987; 181-253.
- Wang H, Dudley AW, Dupont J, Reeds PJ, Hachey DL, Dudley MA. The duration of medium-chain triglyceride feeding determines brush border membrane lipid composition and hydrolase activity in newly weaned rats. *J Nutr* 1996; 126 (5): 1455-1462.
- Warden CH, Davis RC, Yoon MY, Hui DY, Svenson K, Xia YR, Diep A, He KY, Lusic AJ. Chromosomal localization of lipolytic enzymes in the mouse: pancreatic lipase, colipase, hormone-sensitive lipase, hepatic lipase, and carboxyl ester lipase. *J Lipid Res* 1993; 34 (8): 1451-1455.
- Wassall SR, McCabe RCY, Ehringer WD, Stillwell W. Effects of dietary fish oil on plasma high density lipoprotein. Electron spin resonance and fluorescence polarization studies of lipid ordering and dynamics. *J Biol Chem* 1992; 267 (12): 8168-8174.
- Watanabe S, Chey WY, Lee KY, Chang TM. Secretin is released by digestive products of fat in dogs. *Gastroenterology* 1986; 90 (4): 1008-1017.
- Watanabe S, Lee KY, Chang TM, Berger-Ornstein L, Chey WY. Role of pancreatic enzymes on release of cholecystokinin-pancreozymin in response to fat. *Am J Physiol* 1988; 254 (6 Pt 1): G837-G842.
- Watkins BA, Xu H, Turek JJ. Linoleate impairs collagen synthesis in primary cultures of avian chondrocytes. *Proc Soc Exp Biol Med* 1996; 212 (2): 153-159.
- Watkins SM, Carter LC, German JB. Docosahexaenoic acid accumulates in cardiolipin and enhances HT-29 cell oxidant production. *J Lipid Res* 1998 39 (8): 1583-1588.
- Watson KE, Abrolat ML, Malone LL, Hoeg JM, Doherty T, Detrano R, Demer LL. Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification. *Circulation* 1997; 96 (6): 1755-1760.
- Weber C, Sejersgard Jakobsen T, Mortensen SA, Paulsen G, Holmer G. Antioxidative effect of dietary coenzyme Q10 in human blood plasma. *Int J Vitam Nutr Res* 1994; 64 (4): 311-315.
- Wenger FA, Jacobi CA, Kilian M, Zieren HU, Muller JM. Does dietary alpha-linolenic acid, promote liver metastases in pancreatic carcinoma initiated by BOP in Syrian hamster? *Ann Nutr Metab* 1999; 43 (2): 121-126.

- Wenxun F, Parker R, Parpia B, Yinsheng Q, Crawford M, Leyton J, Tian J, Junyao L, Junshi C, Campbell TC. Erythrocyte fatty acids, plasma lipids and cardiovascular disease in rural China. *Am J Clin Nutr* 1990; 52: 1027-1036.
- Werner J, Rivera J, Fernández del Castillo C, Lewandrowski K, Adrie C, Rattner DW, Warshaw AL. Differing roles of nitric oxide in the pathogenesis of acute edematous versus necrotizing pancreatitis. *Surgery* 1997; 121 (1): 23-30.
- Weststrate JA, Meijer GW. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52 (5): 334-343.
- Wicker C, Puigserver A. Changes in mRNA levels of rat pancreatic lipase in the early days consumption of a high-lipid diet. *Eur J Biochem* 1989; 180 (3): 563-567.
- Wicker C, Puigserver A. Effects of inverse changes in dietary lipid and carbohydrate on the synthesis of some pancreatic secretory proteins. *Eur J Biochem* 1987; 162: 25-30.
- Wicker C, Puigserver A. Expression of rat pancreatic lipase gene is modulated by a lipid-rich diet at a transcriptional level. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 166 (1): 358-364.
- Wicker C, Puigserver A. Rat pancreatic colipase mRNA: nucleotide sequence of a cDNA clone and nutritional regulation by a lipidic diet. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 167 (1): 130-136.
- Wicker C, Puigserver A, Scheele G. Dietary regulation of levels of active mRNA coding for amylase and serine protease zymogens in the rat pancreas. *Eur J Biochem* 1984; 139: 381-387.
- Wicker C, Scheele GA, Puigserver A. Pancreatic adaptation to dietary lipids is mediated by changes in lipase mRNA. *Biochimie* 1988; 70 (9): 1277-1283.
- Wilde DW, Massey KD, Walker GK, Vollmer A, Grekin RJ. High-fat diet elevates blood pressure and cerebrovascular muscle Ca<sup>2+</sup> current. *Hypertension* 2000; 35 (3): 832-837.
- Willemer S, Kloppel G, Kern HF, Adler G. Immunocytochemical and morphometric analysis of acinar zymogen granules in human acute pancreatitis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1989; 415 (2): 115-123.
- Williams CM, Francis-Knapper JA, Webb D, Brookes CA, Zampelas A, Tredger JA, Wright J, Meijer G, Calder PC, Yaqoob P, Roche H, Gibney MJ. Cholesterol reduction using manufactured foods high in monounsaturated fatty acids: a randomized crossover study. *Br J Nutr* 1999; 81 (6): 439-446. Comment in: *Br J Nutr* 1999; 81 (6): 421-423.
- Williams JA, Burnham DB, Hootman SR. Cellular regulation of pancreatic secretion. En: "Handbook of Physiology. Section 6: The gastrointestinal system. Vol. III. Salivary, gastric, pancreatic and hepatobiliary secretion". Ed. Schultz, Forte and Ranuer. American Physiological Society, Bethesda, Maryland 1989; 419-441.
- Wilson RM, Boden G, Owen OE. Pancreatic polypeptide responses to a meal and to intraduodenal amino acids and sodium oleate. *Endocrinology* 1978; 102: 859-863.
- Wisdom DM, Camello PJ, Salido GM, Singh J. Interaction between secretin and nerve-mediated amylase secretion in the isolated exocrine rat pancreas. *Exp Physiol* 1994; 79 (5): 851-863.
- Wisdom DM, Salido GM, Baldwin LM, Singh J. The role of magnesium in regulating CCK-8-evoked secretory responses in the exocrine rat pancreas. *Mol Cell Biochem* 1996; 154 (2): 123-132.

- Wiseman SA, Mathot JN, de Fouw NJ, Tijburg LB. Dietary non-tocopherol antioxidants present in extra virgin olive oil increase the resistance of low density lipoproteins to oxidation in rabbits. *Atherosclerosis* 1996; 120 (1-2): 15-23.
- Wolf G. High-fat, high-cholesterol diet raises plasma HDL cholesterol: studies on the mechanism of this effect. *Nutr Rev* 1996; 54 (1 Pt 1): 34-35.
- Wollschlager S, Ludwig K, Meissner D, Porst H. Effect of selenium administration on various laboratory parameters in patients with acute pancreatitis. *Med Klin* 1997; 92 Suppl 3: 22-24.
- Woollett LA, Daumerie CM, Dietschy JM. Trans-9-octadecenoic acid is biologically neutral and does not regulate the low density lipoprotein receptor as the cis isomer does in the hamster. *J Lipid Res* 1994; 35 (9): 1661-1673.
- Woollett LA, Spady DK, Dietschy JM. Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate. *J Lipid Res* 1992; 33 (1): 77-88.
- Wormsley KG, Goldberg DM. The interrelationships of the pancreatic enzymes. *Gut* 1972; 13 (5): 398-412.
- Wrenn RW. Phosphorylation of a pancreatic zymogen granule membrane protein by endogenous calcium/phospholipid-dependent protein kinase. *Biochim Biophys Acta* 1984; 775 (1): 1-6.
- Xue L, Yang K, Newmark H, Leung D, Lipkin M. Epithelial cell hyperproliferation induced in the exocrine pancreas of mice by a western-style diet. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88 (21): 1586-1590.
- Yago MD, Mañas M, Ember Z, Singh J. Nitric oxide and the pancreas: morphological base and role in the control of the exocrine pancreatic secretion. *Mol Cell Biochem* 2000; 219 (1-2): 107-120.
- Yago MD, González MV, Martínez-Victoria E, Matáix J, Medrano J, Calpena R, Pérez MT, Mañas M. Pancreatic enzyme secretion in response to test meals differing in the quality of dietary fat (olive and sunflowerseed oils) in human subjects. *Br J Nutr* 1997; 78 (1): 27-39.
- Yao JK, Leonard S, Reddy RD. Membrane phospholipid abnormalities in postmortem brains from schizophrenic patients. *Schizophr Res* 2000; 42 (1): 7-17.
- Yasoshima A, Okawa H, Doi K, Okaniwa A. Early ultrastructural changes of aorta in rats loaded with vitamin D2 and cholesterol. *Nippon Juigaku Zasshi* 1982; 44 (6): 903-908.
- Yeagle PL. Cholesterol and the cell membrane. *Biochim Biophys Acta* 1985; 882: 267-287.
- Yeagle PL. Lipid regulation of cell membrane structure and function. *FASEB J* 1989; 3 (7): 1833-1842.
- Yeagle PL. Modulation of membrane function by cholesterol. *Biochimie* 1991; 73 (10): 1303-1310.
- Yeagle PL. Regulation of membrane function through composition, structure, and dynamics. *Ann N Y Acad Sci* 1989; 568: 29-34.
- Yin JJ, Mossoba MM, Kramer JK, Yurawecz MP, Eulitz K, Morehouse KM, Ku Y. Effects of conjugated linoleic acid on oxygen diffusion-concentration product and depletion in membranes by using electron spin resonance spin-label oximetry. *Lipids* 1991; 34 (10): 1017-1023.
- Yla-Herttuala S. Gene expression in atherosclerotic lesions. *Herz* 1992; 17 (5): 270-276.

- Yo YH, Lee YL, Lee KY, Chang TM, Chey WY. Neurohormonal mechanism of pancreatic exocrine secretion stimulated by sodium oleate and L-tryptophan in dogs. *Am J Physiol* 1992; 263 (1 Pt 1): G12-G16.
- Yokoyama S. Mechanism of cellular cholesterol removal: a communication system between extracellular cholesterol transport and intracellular cholesterol homeostasis. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1998; 111 (2): 77-85.
- Yoo TJ, Kuo CY, Spector AA, Denning GM, Floyd R, Whiteaker S, Kim H, Kim J, Abbas M, Budd TW. Effect of fatty acid modification of cultured hepatoma cells on susceptibility to natural killer cells. *Cancer Res* 1982; 42 (9): 3596-3600.
- Yoshinaga K, Washizuka M, Segawa Y. Fasting exacerbates acute pancreatitis by occlusion of the common bile duct in rats. *Jpn J Pharmacol* 2000; 84 (4): 455-461.
- Yu P, Chen Q, Biancani P, Behar J. Membrane cholesterol alters gallbladder muscle contractility in prairie dogs. *Am J Physiol* 1996; 271 (1 Pt 1): G56-G61.
- Yuan YV, Kitts DD, Godin DV. Interactive effects of increased intake of saturated fat and cholesterol on atherosclerosis in the Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Br J Nutr* 1998; 80 (1): 89-100.
- Yule DI, Williams JA. Stimulus-secretion coupling in the pancreatic acinus. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*. 3ª edición. Ed: Johnson. Ravens Press. New York 1994, pp: 1447-1467.
- Zabrecky JR, Raftery MA. The role of lipids in the function of the acetylcholine receptor. *J Recept Res* 1985; 5 (5-6): 397-417.
- Zafra MF, Castillo M, Rodriguez-Vico F, Garcia-Peregrin E. Induction in *Gallus domesticus* of experimental hypercholesterolemia by saturated fat. Effects on cholesterologenic enzyme activity. *Arch Int Physiol Biochim Biophys* 1992; 100 (2): 133-136.
- Zager RA. Plasma membrane cholesterol: a critical determinant of cellular energetics and tubular resistance to attack. *Kidney Int* 2000; 58 (1): 193-205.
- Zhang T, Sumi S, Thompson JC, Greeley GH Jr. Release of peptide-YY from the dog pancreas. *Endocrinology* 1992; 130 (4): 2025-2030.
- Zhou Q, Jimi S, Smith TL, Kummerow FA. The effect of cholesterol on the accumulation of intracellular calcium. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1085 (1): 1-6.
- Zsigmond E, Parrish C, Fong B, Angel A. Changes in dietary lipid saturation modify fatty acid composition and high-density-lipoprotein binding of adipocyte plasma membrane. *Am J Clin Nutr* 1990; 52 (1): 110-119.
- Zulet MA, Barber A, Garcin H, Higuieret P, Martinez JA. Alterations in carbohydrate and lipid metabolism induced by a diet rich in coconut oil and cholesterol in a rat model. *J Am Coll Nutr* 1999; 18 (1): 36-42.
- Zulet MA, Macarulla MT, Portillo MP, Noel-Suberville C, Higuieret P, Martinez JA. Lipid and glucose utilization in hypercholesterolemic rats fed a diet containing heated chickpea (*Cicer arietinum* L.): a potential functional food. *Int J Vitam Nutr Res* 1999; 69 (6): 403-411.
- Zureik M, Ducimetiere P, Warnet JM, Orssaud G. Fatty acid proportions in cholesterol esters and risk of premature death from cancer in middle aged French men. *Br Med J* 1995; 311 (7015): 1251-1254, 41 ref.





# ANEXOS



## ÍNDICE DE FIGURAS

Página

<b>Figura 1:</b>	Partícula de LDL (lipoproteína de baja densidad)	<b>31</b>
<b>Figura 2:</b>	Representación de los cuatro principales fosfolípidos constituyentes de las membranas plasmáticas de mamíferos.	<b>84</b>
<b>Figura 3:</b>	Distribución asimétrica de fosfolípidos y glicolípidos en la bicapa lipídica de células de eritrocito humano.	<b>85</b>
<b>Figura 4:</b>	Estructura del colesterol.	<b>88</b>
<b>Figura 5:</b>	Disposición de la molécula de colesterol en una bicapa lipídica.	<b>89</b>
<b>Figura 6:</b>	Representación esquemática de una membrana plasmática.	<b>91</b>
<b>Figura 7:</b>	Localización del páncreas en el hombre.	<b>125</b>
<b>Figura 8:</b>	Porciones exocrina y endocrina del páncreas.	<b>127</b>
<b>Figura 9:</b>	Estructura del páncreas: diferenciación de las distintas porciones	<b>129</b>
<b>Figura 10:</b>	Vía de transducción de la hidrólisis de fosoinositoles.	<b>192</b>
<b>Figura 11:</b>	Movilización de $\text{Ca}^{2+}$ intra y extracelular, mediado por $\text{IP}_3$ e $\text{IP}_4$ .	<b>192</b>
<b>Figura 12:</b>	Sistema de titración CRISON micro TT 2050 ST.	<b>207</b>
<b>Figura 13:</b>	Esquema de funciones del sistema de titración.	<b>208</b>
<b>Figura 14:</b>	Representación gráfica del volumen de reactivo titrante (ml NaOH) gastado por unidad de tiempo (min).	<b>209</b>
<b>Figura 15:</b>	Diseño experimental.	<b>217</b>
<b>Figura 16:</b>	Reacciones enzimático-colorimétricas (determinación de colesterol total)	<b>229</b>
<b>Figura 17:</b>	Cromatograma correspondiente a los ácidos grasos presentes en una muestra de membrana pancreática.	<b>233</b>
<b>Figura 18:</b>	Actividad de amilasa (U/g páncreas)	<b>240</b>
<b>Figura 19:</b>	Actividad de lipasa (U/g páncreas)	<b>241</b>
<b>Figura 20:</b>	Relación lipasa/amilasa (U/g páncreas)	<b>241</b>
<b>Figura 21:</b>	Actividad de colipasa (U/g páncreas)	<b>242</b>
<b>Figura 22:</b>	Actividad de tripsina (U/g páncreas)	<b>243</b>
<b>Figura 23:</b>	Actividad de quimiotripsina (U/g páncreas)	<b>244</b>
<b>Figura 24:</b>	Actividad de amilasa total (U/ páncreas)	<b>244</b>
<b>Figura 25:</b>	Actividad de lipasa total (U/ páncreas)	<b>245</b>
<b>Figura 26:</b>	Relación lipasa/amilasa total (U/gpáncreas)	<b>246</b>
<b>Figura 27:</b>	Actividad de colipasa total (U/ páncreas)	<b>246</b>
<b>Figura 28:</b>	Actividad de tripsina total (U/ páncreas)	<b>247</b>
<b>Figura 29:</b>	Actividad de quimiotripsina total (U/ páncreas)	<b>248</b>
<b>Figura 30:</b>	Actividad específica de amilasa (U/ mg proteína)	<b>249</b>
<b>Figura 31:</b>	Actividad específica de lipasa (U/ mg proteína)	<b>250</b>
<b>Figura 32:</b>	Relación específica lipasa/amilasa (U/ mg proteína)	<b>250</b>
<b>Figura 33:</b>	Actividad específica de colipasa (U/ mg proteína)	<b>251</b>
<b>Figura 34:</b>	Actividad específica de tripsina (U/ mg proteína)	<b>252</b>
<b>Figura 35:</b>	Actividad específica de quimiotripsina (U/ mg proteína)	<b>252</b>
<b>Figura 36:</b>	Contenido en colesterol total (mg/g páncreas)	<b>253</b>
<b>Figura 37:</b>	Porcentaje de ácido mirístico de membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>258</b>
<b>Figura 38:</b>	Porcentaje de ácido palmítico en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>258</b>
<b>Figura 39:</b>	Porcentaje de ácido esteárico en membranas plasmáticas y	<b>258</b>

	mitocondriales de tejido pancreático	
<b>Figura 40:</b>	Porcentaje de ácido miristoleico en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>260</b>
<b>Figura 41:</b>	Porcentaje de ácido palmitoleico en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>260</b>
<b>Figura 42:</b>	Porcentaje de ácido oleico en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>260</b>
<b>Figura 43:</b>	Porcentaje de ácido linoleico en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>261</b>
<b>Figura 44:</b>	Porcentaje de ácido araquidónico en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>261</b>
<b>Figura 45:</b>	Porcentaje de PUFA (n-6) en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>263</b>
<b>Figura 46:</b>	Porcentaje de PUFA>18C (n-6) en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>263</b>
<b>Figura 47:</b>	Porcentaje de ácido linolénico en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>265</b>
<b>Figura 48:</b>	Porcentaje de EPA en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>265</b>
<b>Figura 49:</b>	Porcentaje de DHA en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>265</b>
<b>Figura 50:</b>	Porcentaje de PUFA (n-3) en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>266</b>
<b>Figura 51:</b>	Porcentaje de PUFA (n-3)>18 C en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>266</b>
<b>Figura 52:</b>	Porcentaje de SFA en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>267</b>
<b>Figura 53:</b>	Porcentaje de MUFA en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>267</b>
<b>Figura 54:</b>	Porcentaje de PUFA en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>268</b>
<b>Figura 55:</b>	Índice de SFA/MUFA en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>269</b>
<b>Figura 56:</b>	Índice de SFA/PUFA en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>269</b>
<b>Figura 57:</b>	Índice de insaturación (UI) en membranas plasmáticas y mitocondriales de tejido pancreático	<b>270</b>
<b>Figura 58:</b>	Porcentaje de ácido mirístico en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>280</b>
<b>Figura 59:</b>	Porcentaje de ácido palmítico en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>280</b>
<b>Figura 60:</b>	Porcentaje de ácido esteárico en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>281</b>
<b>Figura 61:</b>	Porcentaje de ácido miristoleico en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>282</b>
<b>Figura 62:</b>	Porcentaje de ácido palmitoleico en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>282</b>
<b>Figura 63:</b>	Porcentaje de ácido oleico en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>282</b>
<b>Figura 64:</b>	Porcentaje de ácido linoleico en membranas microsomales de tejido	<b>283</b>

	pancreático	
<b>Figura 65:</b>	Porcentaje de ácido araquidónico en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>283</b>
<b>Figura 66:</b>	Porcentaje de PUFA (n-6) en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>284</b>
<b>Figura 67:</b>	Porcentaje de PUFA>18C (n-6) en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>285</b>
<b>Figura 68:</b>	Porcentaje de ácido linolénico en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>286</b>
<b>Figura 69:</b>	Porcentaje de EPA en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>286</b>
<b>Figura 70:</b>	Porcentaje de DHA en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>287</b>
<b>Figura 71:</b>	Porcentaje de PUFA (n-3) en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>288</b>
<b>Figura 72:</b>	Porcentaje de PUFA>18C (n-3) en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>288</b>
<b>Figura 73:</b>	Porcentaje de SFA en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>289</b>
<b>Figura 74:</b>	Porcentaje de MUFA en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>289</b>
<b>Figura 75:</b>	Porcentaje de PUFA en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>290</b>
<b>Figura 76:</b>	Porcentaje de SFA/MUFA en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>291</b>
<b>Figura 77:</b>	Porcentaje de SFA/PUFA en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>291</b>
<b>Figura 78:</b>	Índice de insaturación (UI) en membranas microsomales de tejido pancreático	<b>291</b>
<b>Figura 79:</b>	Incremento de peso a lo largo del tiempo	<b>308</b>
<b>Figura 80:</b>	Relación pancreosomática (peso páncreas/peso corporal)	<b>308</b>
<b>Figura 81:</b>	Contenido en proteína total (mg/g páncreas)	<b>309</b>
<b>Figura 82:</b>	Contenido en colesterol total (mg/g páncreas)	<b>310</b>
<b>Figura 83:</b>	Actividades enzimáticas (U/g páncreas) de los grupos control y aterogénico	<b>312</b>
<b>Figura 84:</b>	Porcentaje de MUFA de los grupos control y distintos aceites	<b>330</b>
<b>Figura 85:</b>	Porcentaje de PUFA (n-6) de los grupos control y distintos aceites	<b>330</b>
<b>Figura 86:</b>	Porcentaje de PUFA (n-3)>18C de los grupos control y distintos aceites	<b>330</b>



## **ÍNDICE DE FOTOS**

## **Página**

<b>Foto 1:</b>	Conejo de raza New Zealand, empleado en el diseño experimental	<b>210</b>
<b>Foto 2:</b>	Equipo de jaulas empleadas para la ubicación de los animales	<b>210</b>
<b>Foto 3:</b>	Control de peso de los animales	<b>211</b>
<b>Foto 4:</b>	Inyección de anestesia, a través de la vena marginal de la oreja en conejo	<b>219</b>
<b>Foto 5:</b>	Separación del nervio vago de la arteria carótida	<b>220</b>
<b>Foto 6:</b>	Canulación de la arteria carótida	<b>220</b>
<b>Foto 7:</b>	Abordaje de la cavidad abdominal y sección peritoneal	<b>220</b>
<b>Foto 8:</b>	Vista <i>in situ</i> de tejido pancreático	<b>220</b>
<b>Foto 9:</b>	Separación del tejido pancreático de bazo, estómago y duodeno	<b>220</b>
<b>Foto 10:</b>	Páncreas extraído con tejido conectivo y graso	<b>220</b>
<b>Foto 11:</b>	Tejido pancreático limpio	<b>220</b>





## ÍNDICE DE TABLAS

Página

<b>Tabla 1:</b> Incremento en los niveles de LDL colesterol a partir del colesterol de la dieta.	<b>36</b>
<b>Tabla 2:</b> Punto de fusión de distintos ácidos grasos en función del número de dobles enlaces.	<b>86</b>
<b>Tabla 3:</b> Composición lipídica aproximada de diferentes membranas celulares.	<b>90</b>
<b>Tabla 4:</b> Listado de material quirúrgico empleado en el proceso de sacrificio y obtención de órganos de conejos experimentales.	<b>203</b>
<b>Tabla 5:</b> Listado de material de vidrio empleado en las diferentes técnicas analíticas.	<b>203</b>
<b>Tabla 6:</b> Listado de material general de laboratorio.	<b>204</b>
<b>Tabla 7:</b> Potenciometría ácido-base. Plantilla de resultados obtenidos por titrimetría a pH constante, para el cálculo de actividad enzimática.	<b>209</b>
<b>Tabla 8:</b> Composición y vitaminas adicionadas en la dieta de mantenimiento de conejos experimentales.	<b>211</b>
<b>Tabla 9:</b> Perfil de ácidos grasos de las dietas estándar y aterogénica.	<b>212</b>
<b>Tabla 10:</b> Contenido en $\alpha$ -tocoferol de los distintos aceites vegetales empleados.	<b>213</b>
<b>Tabla 11:</b> Composición en ácidos grasos de los distintos aceites empleados.	<b>214</b>
<b>Tabla 12:</b> Composición de tampón fosfato sódico 0.2 M; 0.0067 M de ClNa, pH 7.05 (determinación de actividad amilásica).	<b>224</b>
<b>Tabla 13:</b> Composición de tampones: TRIS 0.005 M; 0.004 M ClNa; pH 7.90 y Fosfato potásico 0.2 M; pH 7.60 (determinación de actividad quimiutrípica).	<b>225</b>
<b>Tabla 14:</b> Composición de tampón TRIS 0.005 M; 0.004 M ClNa; 0.02 M Cl <sub>2</sub> Ca, pH 7.90 (determinación de actividad trípica).	<b>226</b>
<b>Tabla 15:</b> Composición de tampón TRIS/Maleato 2mM; 150 Mm NaCl; 1Mm CaCl <sub>2</sub> y 4mM NaTDC; pH 7.50 (determinación de actividades de lipasa y colipasa).	<b>227</b>
<b>Tabla 16:</b> Interpretación clínica de trastornos lipídicos (según Recomendaciones de la Sociedad Europea de Aterosclerosis, 1987).	<b>230</b>
<b>Tabla 17:</b> Características analíticas del cromatógrafo empleado en la cuantificación de ésteres metílicos de ácidos grasos de membranas pancreáticas.	<b>232</b>
<b>Tabla 18:</b> Pesos corporales (0, 50 y 80 días) de los grupos experimentales	<b>237</b>
<b>Tabla 19:</b> Incremento de peso a lo largo del periodo experimental	<b>238</b>
<b>Tabla 20:</b> Pesos de páncreas y relación pancreosomática de los grupos experimentales	<b>239</b>
<b>Tabla 21:</b> Actividad (U/g panc) de enzimas determinadas en tejido pancreático	<b>254</b>
<b>Tabla 22:</b> Actividad total (U/pancreas) de enzimas determinadas en tejido pancreático	<b>255</b>
<b>Tabla 23:</b> Actividad específica (U/mg proteína) de enzimas determinadas en tejido pancreático	<b>256</b>
<b>Tabla 24:</b> Porcentaje de ácidos grasos saturados (mirístico, palmítico y esteárico) de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas	<b>271</b>
<b>Tabla 25:</b> Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados (miristoleico, palmitoleico y oleico) de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas	<b>272</b>
<b>Tabla 26:</b> Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 (linoleico y	<b>273</b>

	araquidónico) de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas	
<b>Tabla 27:</b>	Porcentaje de PUFA n-6 Y PUFA>18C n-6 de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas	<b>274</b>
<b>Tabla 28:</b>	Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (linolénico, EPA y DHA) de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas	<b>275</b>
<b>Tabla 29:</b>	Porcentaje de PUFA n-3 Y PUFA>18C n-3, de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas	<b>276</b>
<b>Tabla 30:</b>	Porcentaje de SFA, MUFA y PUFA totales, de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas	<b>277</b>
<b>Tabla 31:</b>	Índices SFA/MUFA, SFA/PUFA y UI, de membranas plasmáticas y mitocondriales pancreáticas	<b>278</b>
<b>Tabla 32:</b>	Porcentaje de ácidos grasos saturados (mirístico, palmítico y esteárico), de membranas microsomaes pancreáticas	<b>292</b>
<b>Tabla 33:</b>	Porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados (miristoleico, palmitoleico y oleico), de membranas microsomaes pancreáticas	<b>293</b>
<b>Tabla 34:</b>	Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 (linoleico y araquidónico) de membranas microsomaes pancreáticas	<b>294</b>
<b>Tabla 35:</b>	Porcentaje de PUFA n-6 Y PUFA>18C n-6 de membranas microsomaes pancreáticas	<b>295</b>
<b>Tabla 36:</b>	Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (linolénico, EPA y DHA), de membranas microsomaes pancreáticas	<b>296</b>
<b>Tabla 37:</b>	Porcentaje de PUFA n-3 Y PUFA>18C n-3, de membranas microsomaes pancreáticas	<b>297</b>
<b>Tabla 38:</b>	Porcentaje de SFA, MUFA y PUFA totales, de membranas microsomaes pancreáticas	<b>298</b>
<b>Tabla 39:</b>	Índices SFA/MUFA, SFA/PUFA y UI, de membranas microsomaes pancreáticas	<b>299</b>