

UNIVERSIDAD DE GRANADA
INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA



**Aspectos del envejecimiento mitocondrial en corazón
de ratas, dependiente del tipo de grasa aplicada a la
dieta (aceite de oliva o girasol) y la adición de
Coenzima Q₁₀.**

Eduardo de Araújo Nepomuceno

Granada 2005

**Aspectos del envejecimiento mitocondrial en corazón de ratas,
dependiente del tipo de grasa aplicada a la dieta (aceite de
oliva o girasol) y la adición de Coenzima Q₁₀.**

Memoria que presenta el
licenciado Eduardo de Araújo
Nepomuceno para aspirar al
grado de Doctor en Farmacia.

Esta tesis ha sido realizada bajo la dirección de:

Prof. Dr. D. José Luís Quiles Morales

Prof. Dr. D. Julio José Ochoa

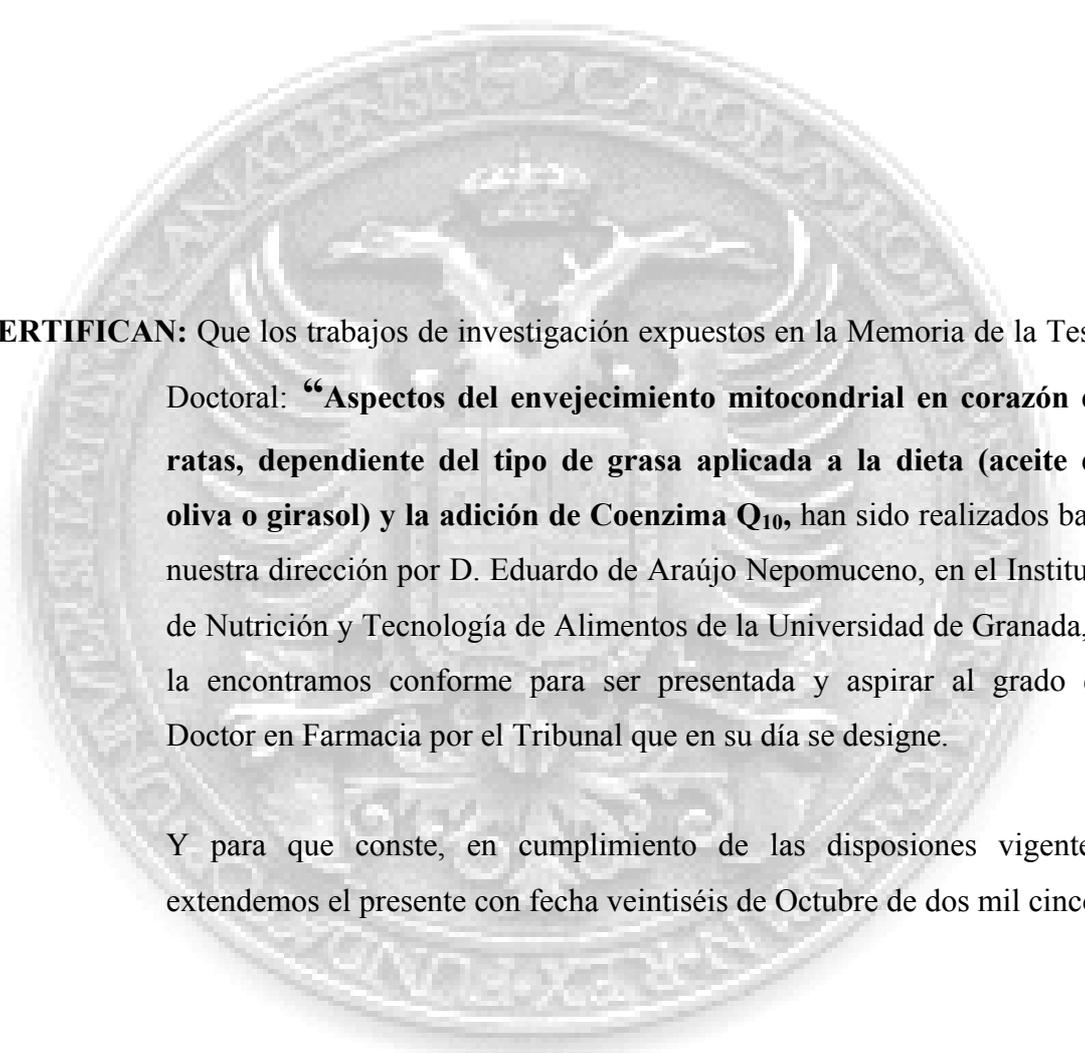
Prof. Dr. D. José Mataix Verdú

D. Eduardo de Araújo
Nepomuceno aspirante al
grado de Doctor en farmacia

D. José Luís Quiles Morales, investigador contratado por la Universidad de Granada

D. Julio José Ochoa, investigador contratado por la Universidad de Granada

D. José Mataix Verdú, Catedrático de Fisiología de la Universidad de Granada



CERTIFICAN: Que los trabajos de investigación expuestos en la Memoria de la Tesis Doctoral: **“Aspectos del envejecimiento mitocondrial en corazón de ratas, dependiente del tipo de grasa aplicada a la dieta (aceite de oliva o girasol) y la adición de Coenzima Q₁₀**, han sido realizados bajo nuestra dirección por D. Eduardo de Araújo Nepomuceno, en el Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Granada, y la encontramos conforme para ser presentada y aspirar al grado de Doctor en Farmacia por el Tribunal que en su día se designe.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, extendemos el presente con fecha veintiséis de Octubre de dos mil cinco.

**Prof. Dr. D. José Luís
Quiles Morales**

**Prof. Dr. D. Julio
José Ochoa**

**Prof. Dr. D. José
Mataix Verdú,**

*“Porque se chamavam homens,
também se chamavam sonhos,
e os sonhos não envelhecem”
(Milton Nascimento)*

*A mis padres Paulo y Maria.
A mi hermano Enrique.*

El trabajo de Investigación recogido en esta memoria de Tesis Doctoral se engloba en el marco de un Proyecto de Investigación financiado por los fondos FEDER (referencia: 1FD97-0457-C02-01).

Siempre que un trabajo llega a su final es importante hacer una reflexión, no sólo desde un punto de vista profesional, pero también desde el punto de vista personal. Dentro de este pensamiento es importante recordar que si no fuera por la presencia, ayuda, apoyo e incentivo de varias personas, el trabajo no tendría tanta importancia.

Inicialmente agradezco al Profesor Dr. José Mataix Verdú por aceptarme como integrante del grupo de investigación del Instituto de Nutrición y Tecnología de alimentos.

A Pepe Quiles por enseñarme el camino, por creer que siempre se puede reempezar, por demostrarme que uno puede hacer lo correcto por su propio esfuerzo.

A Julio, un amigo que encontré por casualidad en ese camino arduo, pero gratificante. Un amigo que sabe incentivar, un amigo que es un ejemplo.

Agradezco a todos los integrantes del instituto, que de una forma u otra, sea con su cariño, con su sonrisa, su amistad o animo, me ayudaron de alguna manera a finalizar este trabajo, entre ellas: Sergio, MD, Chiqui, Dolo, Mariano, Emilio, Paco, Daymi, Rolando, Ricardo, Mayca, Namaa, Yolanda, Susana... Pido perdón a los que por un lapso no los haya mencionado en esas cortas pero tan profundas líneas.

A mis amigos “Flautistas”; José (el enano) y Santi, jefes y amigos, por la oportunidad de trabajar para que pudiera seguir estudiando, a Raúl (el gaditano), Julián (Patilla), Mario, Raquel, Carmela, Cris, Sergi (el francés), Santi Perilla, , Carlos (el calvo), Nacho, Widiane, Makika, Akran y Joaquín (compañeros de puerta), Chema, “Rocios” (a las dos), Candys (a los dos),

A mis grandes amigos Gil, José Atenas y Sami, que me apoyaron en momentos donde pocos se preocuparían er apoyar.

A los “Diáconos”; Carlos y Gloria, Paco “Peluquero” y Carmen; Juami, Diegos (los dos) y como no, a mi hermano Fran y sus padres y hermanos que siempre me tuvieron por familia.

A mi Patri, la que me mantiene de pie, la que me aguanta día a día.

A mi madre, la que siempre me lleva dentro... maestra y educadora.

A mi padre, mi ejemplo de hombre, de fuerza y aplicación.

A mi hermano que me enseñó a no olvidarme de mis sueños.

A Dios, por siempre haber estado conmigo.

ÍNDICE

	Página
CAPITULO 1- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	19
CAPITULO 2- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	25
2.1. DEFINICIÓN Y PRINCIPIOS DEL ENVEJECIMIENTO	27
2.2. TEORÍAS DEL ENVEJECIMIENTO	27
2.3 FISIOLÓGÍA DEL APORTE ENERGÉTICO ÓPTIMO AL BUEN FUNCIONAMIENTO CORPORAL	31
<i>2.3.1 El aporte energético al organismo y al corazón:</i>	<i>31</i>
<i>2.3.2 Los sistemas intrínsecos productores de energía:</i>	<i>33</i>
<i>2.3.3 El papel de la grasa y su influencia en el envejecimiento:</i>	<i>41</i>
<i>2.3.4 Las membranas biológicas y su relación con la grasa derivada de la dieta.</i>	<i>44</i>
<i>2.3.5 La importancia de la grasa en la dieta para la manutención de la salud.....</i>	<i>48</i>
<i>2.3.6 El sistema digestivo y su vinculación con las fuentes grasas.....</i>	<i>49</i>
<i>2.3.7 El efecto de las fuentes grasas sobre la diabetes</i>	<i>50</i>
<i>2.3.8 Efectos sobre el cáncer.....</i>	<i>50</i>
2.4. EL COQ₁₀.....	51
<i>2.4.1 Es descubrimiento del CoQ₁₀</i>	<i>51</i>
<i>2.4.2 La síntesis y distribución de la CoQ₁₀.....</i>	<i>52</i>
<i>2.4.3 Mecanismos de acción del CoQ₁₀.....</i>	<i>53</i>
<i>2.4.4 La insuficiencia cardiaca y su relación con la utilización del CoQ₁₀.....</i>	<i>54</i>
2.5. LA MITOCONDRIA, SU IDENTIFICACIÓN Y ESTRUCTURA	55
2.6. DISTRIBUCIÓN DE ENZIMAS EN LAS MEMBRANAS MITOCONDRIALES	57
2.7. METABOLISMO OXIDATIVO MITOCONDRIAL.....	58
2.8. LA CADENA RESPIRATORIA.....	59
<i>2.8.1 Componentes:</i>	<i>59</i>
<i>2.8.2 Inhibidores:</i>	<i>60</i>
<i>2.8.3 Fosforilación oxidativa</i>	<i>61</i>
<i>2.8.4 Coenzima Q o ubiquinona</i>	<i>64</i>
<i>2.8.5 citocromo Oxidasa.....</i>	<i>66</i>
<i>2.8.6 Desacoplantes e inhibidores:</i>	<i>67</i>
<i>2.8.7 Concepción quimiosmótica del mecanismo de acoplamiento</i>	<i>68</i>
<i>2.8.8 Producción de peróxido de hidrógeno y anión superóxido en mitocondrias</i>	<i>69</i>

2.8.9 <i>El sistema genético mitocondrial</i>	74
2.8.10 <i>Daño oxidativo al ADN y oxidación del ADN mitocondrial</i>	75
2.9. LA LIPOPEROXIDACIÓN	78
2.10.3 <i>Vías de señalización</i>	81
2.10.4 <i>Oxido nítrico y apoptosis</i>	82
2.11. RADICALES LIBRES: SU FORMACIÓN MÁS EXTREMA	85
2.11.1 <i>Formación</i>	85
2.11.2 <i>La actuación antioxidante</i>	90
2.11.3 <i>Protección antioxidante</i>	91
CAPITULO 3- MATERIAL Y MÉTODOS	97
3.1 - MATERIAL	99
3.1.1- <i>Productos Químicos</i>	99
3.1.2- <i>Aparatos de uso general</i>	99
3.1.3 – <i>Material biológico</i>	100
3.1.3.1 – <i>Animales</i>	100
3.1.3.2 – <i>La dieta</i>	101
3.2 – MÉTODOS	103
3.2.1- <i>Diseño experimental</i>	103
3.2.2- <i>Sacrificio de los animales</i>	104
3.2.3 – <i>Procesamiento de órganos y extracción de mitocondrias</i>	104
3.2.3 – <i>Técnica para el procesamiento de la sangre: extracción de linfocitos, plasma, citosol y mitocondrias</i>	105
3.2.3 – <i>Determinaciones analíticas en mitocondria de corazón: determinación cuantitativa de proteínas</i>	106
3.2.4 – <i>Medida de la concentración de hidroperóxidos por la técnica de FOX.</i> 108	
3.2.5 – <i>Técnica de determinación del ácido tiobarbitúrico</i>	111
3.2.6 – <i>Perfil lipídico de las membranas mitocondriales</i>	112
3.2.7 – <i>Extracción y determinación de ubiquinonas y vitamina E por HPLC.</i>	113
3.2.8 – <i>Determinación del daño oxidativo en ADN de linfocitos de sangre periférica.</i>	115
3.2.9 – <i>Aislamiento y análisis mitocondrial por microscopia electrónica</i>	116
3.2.10 – <i>Tratamiento estadístico de los resultados</i>	117
CAPITULO 4- RESULTADOS	119
4.1- RESULTADOS	121

4.1.1	<i>Peso de las ratas</i>	121
4.1.2	<i>Peso del corazón al sacrificio</i>	122
4.2-	RESULTADOS EN MITOCONDRIAS	123
4.2.1	<i>Proteína mitocondrial de corazón</i>	123
4.2.2	<i>Contenido basal de hidroperóxidos (T₀)</i>	124
4.2.3	<i>Contenido inducido de hidroperóxidos (T₁)</i>	125
4.2.4	<i>Susceptibilidad a la peroxidación en mitocondria de corazón (T₁-T₀)</i>	126
4.2.5	<i>Susceptibilidad a la peroxidación en mitocondria de corazón (T₁:T₀)</i>	127
4.2.6	<i>Contenido en sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i>	128
4.2.7	<i>Concentración de α-tocoferol en mitocondrias de corazón</i>	129
4.2.8	<i>Concentración de coenzima Q₉ en mitocondria de corazón</i>	130
4.2.9	<i>Concentración de coenzima Q₁₀ en mitocondria de corazón</i>	131
4.2.10	<i>Relación mitocondrial de corazón entre coenzima Q₉:coenzima Q₁₀</i>	132
4.2.11	<i>Concentración mitocondrial de coenzima Q₉₊₁₀</i>	133
4.2.12	<i>Contenido relativo en C₁₂</i>	134
4.2.13	<i>Contenido relativo en C₁₄ (ácido mirístico)</i>	135
4.2.14	<i>Contenido relativo en C₁₆ (ácido palmítico)</i>	136
4.2.15	<i>Contenido relativo en C₁₈ (ácido esteárico)</i>	137
4.2.16	<i>Contenido relativo en C_{18:1n-9} (ácido oleico)</i>	138
4.2.17	<i>Contenido relativo en C_{18:2n-6} (ácido linoleico)</i>	139
4.2.18	<i>Contenido relativo en C_{20:4n-6} (eicosatetraenoico o ácido araquidónico)</i>	140
4.2.19	<i>Contenido relativo en C_{20:5n-3} (eicosapentaenoico o EPA)</i>	141
4.2.20	<i>Contenido relativo en C_{22:6n-3} (docosahexaenoico o DHA)</i>	142
4.2.21	<i>Suma de ácidos grasos saturados totales (SFA)</i>	143
4.2.22	<i>Suma de ácidos grasos monoinsaturados totales (AGM)</i>	144
4.2.23	<i>Suma de ácidos grasos poliinsaturados totales (AGP)</i>	145
4.2.24	<i>Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6</i>	146
4.2.25	<i>Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3</i>	147
4.2.26	<i>Relación entre el contenido relativo de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados (AGM/AGP)</i>	148
4.2.27	<i>Relación entre el contenido relativo de ácido oleico y linoleico</i>	149
4.2.28	<i>Área de las mitocondrias de corazón por microscopía electrónica</i>	150
4.2.29	<i>Perímetro de las mitocondrias de corazón por microscopía electrónica</i>	151
4.2.30	<i>Densidad de las crestas de las mitocondrias de corazón por microscopía electrónica</i>	152
4.3-	RESULTADOS EN PLASMA	153
4.3.1	<i>Concentración plasmática de Retinol</i>	153

4.3.2	Concentración plasmática de α -tocoferol.	154
4.3.3	Concentración plasmática de coenzima Q_9	155
4.3.4	Concentración plasmática de coenzima Q_{10}	156
4.3.5	Relación plasmática entre coenzima Q_9 :coenzima Q_{10}	157
4.3.6	Concentración plasmática de coenzima Q_{9+10}	158
4.3.7	Capacidad antioxidante total del plasma.	159
4.3.8	Daño oxidativo en ADN de linfocitos de sangre periférica.	160
4.3.9	Contenido relativo en C_{14} (ácido mirístico).	161
4.3.10	Contenido relativo en C_{16} (ácido palmítico).	162
4.3.11	Contenido relativo en C_{18} (ácido esteárico).	163
4.3.12	Contenido relativo en C_{24}	164
4.3.13	Contenido relativo en $C_{16:1n-9}$	165
4.3.14	Contenido relativo en $C_{18:1n-9}$ (ácido oleico).	166
4.3.15	Contenido relativo en $C_{18:2n-6}$ (ácido linoleico).	167
4.3.16	Contenido relativo en $C_{18:3n-3}$	168
4.3.17	Contenido relativo en $C_{20:2n-6}$	169
4.3.18	Contenido relativo en $C_{20:3n-6}$	170
4.3.19	Contenido relativo en $C_{20:4n-6}$ (eicosatetraenoico o ácido araquidónico).	171
4.3.20	Contenido relativo en $C_{20:5n-3}$ (eicosapentaenoico o EPA).	172
4.3.21	Contenido relativo en $C_{22:6n-3}$ (docosahexaenoico o DHA).	173
4.3.22	Contenido relativo en $C_{22:1n-9}$	174
4.3.23	Contenido relativo en $C_{24:1n-9}$	175
4.3.24	Suma de ácidos grasos saturados totales (SFA).	176
4.3.25	Suma de ácidos grasos monoinsaturados totales (AGM).	177
4.3.26	Suma de ácidos grasos poliinsaturados totales (AGP).	178
4.3.27	Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6.	179
4.3.28	Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3.	180
4.3.29	Relación entre los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 y los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3.	181
4.3.30	Relación entre el contenido relativo de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados (AGM/AGP).	182
4.3.31	Relación entre el contenido relativo de ácido oleico y linoleico.	183
CAPÍTULO 5- DISCUSIÓN		185
5.1	Introducción	187
5.1	Adaptación de los animales al modelo experimental.	190
5.2	Adaptación de las membranas mitocondriales cardíacas al perfil lipídico de la dieta.	192
5.3	Adaptación a la suplementación dietética con CoQ_{10} de las membranas	

<i>mitocondriales cardíacas</i>	193
<i>5.3 Composición plasmática y de las membranas mitocondriales</i>	194
<i>5.3.1 Ácidos grasos</i>	194
<i>5.3.1.1 Fracción de ácidos grasos saturados (AGS)</i>	194
<i>5.3.1.2 Fracción de ácidos grasos monoinsaturados (AGM)</i>	196
<i>5.3.1.3 fracción de ácidos grasos poliinsaturados (AGP)</i>	198
<i>5.4 Estudio del contenido mitocondrial en moléculas antioxidantes</i>	204
<i>5.4.1 Coenzima Q</i>	204
<i>5.5.2 α-Tocoferol</i>	208
<i>5.5.3 Retinol</i>	210
<i>5.6 Estrés oxidativo en función de la dieta y del envejecimiento</i>	212
<i>5.6.1 Daño oxidativo a mitocondrias y lípidos (peroxidación lipídica)</i>	212
<i>5.7 Daño oxidativo al ADN de linfocitos de sangre periférica en función del envejecimiento y de la dieta</i>	215
<i>5.8 Morfología y sus cambios durante en proceso de envejecimiento mitocondrial</i>	217
CAPÍTULO 6- CONCLUSIÓN	219
CAPÍTULO 7- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	223

Capitulo 1- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El proceso de envejecimiento no sólo se resume a aspectos fisiológicos. Hay que considerar aspectos, socio-económicos, políticos, demográficos, entre otros. Por su complejidad, requiere el estudio de varias ciencias, sean en el campo biológico o humano. Tal fenómeno recorre toda la historia de la humanidad, donde se observan características diferentes de acuerdo con la cultura analizada, el tiempo y el espacio cogidos para el análisis. El tema surge como fenómeno social de alta relevancia a partir del último siglo, que fue testigo del aumento de la expectativa de vida, del avance de las ciencias médicas, del saneamiento básico, de la tecnología en general, sobretodo en los países del llamado Primero Mundo. Las condiciones objetivas de vida interfieren directamente sobre el envejecimiento, tanto cuantitativamente a la expectativa de vida, cuanto cualitativamente a través de la política social. En los países desarrollados, incluyendo algunos europeos (Reino-Unido, Alemania, España, Francia, Dinamarca; Noruega, Suiza, Suecia, entre otros), Japón y Estados Unidos de América, las personas de tercera edad cuentan con programas y servicios sociales, que les garantiza una vejez como mínimo digna.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) tiene parámetros diferenciados para el inicio del proceso de envejecimiento. Considera, desde 1982, que su comienzo en los países desarrollados se procesa a los 65 años y a los 60 años en los países en desarrollo.

De todas formas, no podemos olvidarnos del componente fisiológico de envejecimiento. La formación de los radicales libres, la generación del daño oxidativo, los mecanismos de defensa corporales, así como la utilización de los antioxidantes como medicinas efectivas de combate a las lesiones y enfermedades relacionadas serán elucidados en los tópicos siguientes de este trabajo.

La actuación del medio ambiente sobre la formación de los radicales libres es otro aspecto importante. Actualmente, la proliferación de descubrimientos sobre la formación, acción e inactivación de los radicales libres es muy grande. Desde del punto de vista científico, la elucidación de esos procesos permitiría establecer cuáles serian los cambios de comportamiento, importantes y necesarios, a los que debería someterse nuestra sociedad, para reducir el estrés celular y su consecuente envejecimiento. Independientemente de las investigaciones, ¿será que los sencillos descubrimientos y elucidación de los mecanismos que promueven el daño celular son suficientes para condicionar el cambio de comportamiento de la sociedad?

Hoy en día, ni solo los atletas, pero sí todos los seres humanos, estamos

insertos en un contexto social donde el trabajo es más importante que la salud del individuo. Cada día más, los hábitos alimentarios están convirtiéndose en verdaderas pesadillas desde en punto de vista médico, y consecuentemente, de la salud. La ingestión diaria de alimentos ricos en grasas, conservantes, acidulantes, espesantes, etc., es cada vez más frecuente. Ese factor aliado al estrés cotidiano, las cobranzas profesionales, la inseguridad de la vida en las grandes ciudades, la violencia social, las facturas de fin de mes, las responsabilidades familiares, el tráfico, en fin, el “estrés social”, hace que nos desgastemos psíquico y físicamente.

De esa forma, parece inminente que la producción de los radicales libres y del estrés oxidativo, con consecuente envejecimiento y daño celular no podrá ser frenada. A nuestro lado están los antioxidantes, y con ellos se puede mejorar la calidad de vida. Por un lado es verdad: la utilización de antioxidantes es positiva para prevenir y algunas veces tratar varios tipos de enfermedades, como el alzheimer, problemas cardiacos, cáncer, diabetes mellitus, lupus eritematoso sistémico, problemas respiratorios, etc., o sea, en general las enfermedades donde se procesan los daños oxidativos por la formación o presencia de formas reactivas del oxígeno (sobretudo el peróxido de hidrógeno y el anión superóxido). Por otro lado, podemos afirmar que una de las causas del envejecimiento (y daño celular) se origina por nuestra organización social que no permite que los seres humanos disfruten satisfactoriamente de la vida, que no proporciona a la humanidad el derecho de vivir con la tranquilidad y el bienestar que merecen. Así, una vez más se puede afirmar que no adelanta tratar única y exclusivamente los síntomas de una enfermedad, y tampoco prevenirla sin tener en cuenta el ambiente en que se vive.

El objetivo principal de ese trabajo, por lo tanto, es determinar la susceptibilidad de las mitocondrias de corazón a las alteraciones oxidativas asociadas al envejecimiento a partir de la administración de una dieta isocalóricas, conteniendo fuentes de grasa diferentes. Las dos fuentes lipídicas en cuestión son: aceite de oliva virgen, que presenta fundamentalmente en su constitución ácido oleico, monoinsaturado, menos propenso al efecto oxidativo dañino. La segunda fuente es el aceite de girasol, compuesto básicamente por ácido linoleico poliinsaturado. Observaremos paralelamente, la formación de radicales libres, daños oxidativos, la efectividad de la cadena de transporte electrónica y el efecto protector contra el daño oxidativo por la administración de coenzima Q₁₀.

A partir del objetivo central podemos citar algunos **objetivos secundarios**

que están implícitos a partir de que fue expuesto:

- Estudiar el efecto sobre las membranas fosfolipídicas de la administración de dietas de fuentes grasas distinta, a parte de elucidar la acción de la coenzima Q₁₀ y la posible incrementación de su efecto endógeno.
- Buscar indicadores que determinen la real importancia de las manipulaciones dietéticas.

El trabajo en sí, como mencionado, realiza un estudio con ratas con la justificación de la necesidad de análisis de tejidos vivos (corazón) de forma que es imposible que sean analizados de una fuente humana.

Una vez contrastados, clasificados y articulados todos los datos encontrados sobre el asunto, dejamos que estos hablen por sí solos. Esto no significa que los datos hablaran por si solos, pero si que deberán hablar a partir de las investigaciones hechas en este estudio. Además, se pretende organizar y realizar la exposición de esta investigación lo más fielmente posible a los datos encontrados y articulados, como acción y pensamiento, siendo ésta, una de las maneras de buscar la verdad y de demostrarla.

Finalizando, debe añadirse que este proyecto se constituyó en un esfuerzo, todavía preliminar en cuanto a su reflexión, sobre el tema propuesto, para el estudio, ya sea como punto de partida o bien como ya se hace. Así, éste sufrió adaptaciones y correcciones en el transcurso de la investigación, para: a) establecer con mayor precisión el tiempo necesario de su ejecución, b) especificar el objetivo deseado, así como definirlo con una mayor precisión en la manera de lograrlo.

Capitulo 2- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

2.1. Definición y principios del envejecimiento

El envejecimiento es un proceso único e individual que ocurre en cada persona. Se relaciona necesariamente a factores sociales, culturales e históricos, que tienen un impacto social relevante, pues envuelve históricamente la tercera edad de varias generaciones.

Por su carácter multifacético, el envejecimiento abarca múltiples abordajes: físicas, emocionales, sociales, económicas, políticas, ideológicas, culturales, históricas, entre otras. La conjuntura marca las diversas formas de vivir y de conocer el envejecimiento, así como las determinaciones culturales toman formas diferenciadas en el tiempo y espacio.

Otro diferencial se refiere a la posición social que los individuos ocupan. Personas que viven en locales con saneamiento adecuado, en residencias limpias, que tienen a su alcance una alimentación balanceada, servicios de salud eficientes, red de transporte colectivo que atiende a las demandas de la población, red de enseñanza competente en todos los grados, tienen mejores condiciones de vivir y envejecer con más salud y dignidad que aquellas excluidas de los servicios citados.

Biológicamente, la definición de envejecimiento, puede ser definida como un proceso fisiológico, donde el organismo, con el paso del tiempo, se ve incapaz de mantener la estabilidad de reacciones bioquímicas y funciones corporales, dependientes del metabolismo, frente a las alteraciones del medio externo.

2.2. Teorías del envejecimiento

Los científicos, desde los primordios de la humanidad, siguen con su busca incansable por encontrar un mecanismo, fórmula o sustancia capaz de frenar nuestra “derrota frente al tiempo”, con el fin de proporcionar longevidad, y porque no, la vida eterna.

En esa búsqueda elaboraron cerca de 300 teorías distintas sobre el envejecimiento, donde actualmente la aceptada y difundida entre los diversos grupos de científicos es *la teoría del estrés oxidativo*.

Independientemente de la teoría propuesta, queda claro que prácticamente podemos afirmar que todas se dividen en estratos donde se posiciona las poblaciones agrupadas por edades (CHARLESWORTH, 1994). En acuerdo también se ponen con relación al hecho de que cualquiera alteración que ralentice o estimule la selección natural alteraría la generación del envejecimiento. Algunos aspectos pueden ser considerados complementarios para explicar la evolución del envejecimiento. 1) Se considera improbable que existan genes específicos de la senectud. 2) Hay genes que con el paso de la edad pueden establecer el surgimiento de estados fisiológicos perjudiciales a la salud del individuo que se disgregan de la selección natural o que en momentos de la vida son beneficiosos y se vuelven nocivos con el tiempo. 3) A parte de la no programación del envejecimiento observamos que gran parte de este proceso se debe a la acumulación de daño somático por la necesidad de reparación y mantenimiento de los medios fisiológicos, lo que nos lleva a afirmar que los genes responsables por el control de reparación del ADN y defensa antioxidante son responsables en parte por la longevidad del individuo (CHARLESWORTH, 1994; MARTIN Y COLS, 1996; KIRKWOOD Y AUSTAD, 2000).

Unas de las teorías inicialmente aceptadas, tiene su fecha inicial en 1821, siendo propuesta por *Albert Weisemann*. Se denomina originariamente de *Wear and Tear*. Se trata de la teoría precursora al concepto de falla de reparación en el ADN. Se basaba en el hecho de que un organismo constantemente expuesto a lesiones, enfermedades y heridas, nunca tienen sus células y tejidos reparados del todo, de forma que esta erosión progresiva podría contribuir para la disminución de la funcionalidad global del organismo. En otras palabras la teoría se basaba en proceso gradual de desgaste a las células somáticas. Evidentemente no se trata de una teoría concisa, una vez que ya se ha demostrado que un organismo que no sufre agresiones, o enfermedades no deja de envejecer por eso (CARDOSO, 2002).

La teoría de la telomerasa tiene en cuenta la a variación su actividad enzimática a lo largo da vida. Los cromosomas presentan en su extremidad, una porción denominada telomero, que no lleva información genética. Los telomeros presentan porciones repetidas de secuencias de bases como GGGTTA, presentes en humanos, que son mantenidas por la telomerasa. La reposición de los telomeros es fundamental para la manutención de la integridad de los cromosomas. La teoría sugiere que la perdida de la actividad telomerásica, con consecuente disminución de los telomeros, lleva al envejecimiento celular, con perdida de la capacidad de proliferación (KELLER y cols.,

2000).

La teoría conocida como *acumulación de mutaciones* (ROSE, 1991; MARTIN, 1996) afirma que individuos genéticamente más aptos para seguir viviendo y en condiciones de reproducirse en el medio en que están insertados son los que dejarán su herencia genética a futuras descendencias. Existe la tendencia a que se mantengan las características que mejoren sus aptitudes y la eliminación de las mutaciones letales o que empeoren las probabilidades de éxito cuanto a la procreación y transmisión de herencia genéticas a generaciones futuras. (KIRKWOOD Y AUSTAD, 2000).

Las teorías fisiológicas del envejecimiento se centran en los sistemas orgánicos y sus interrelaciones. Por ejemplo, una de las áreas más investigadas en la actualidad es el sistema inmune que protege nuestro organismo de las células extrañas. Una característica de los mamíferos es que su sistema inmune pierde gradualmente su capacidad de enfrentarse a las infecciones y a otras situaciones como el envejecimiento. Como resultado, los anticuerpos que produce el organismo son incapaces de distinguir entre células "amistosas" o "propias", y "enemigas" o "no propias". Actualmente, la mayoría de los expertos consideran que el envejecimiento no es el resultado de un mecanismo aislado sino que comprende un conjunto de fenómenos que actúan en concierto.

Otras teorías atribuyen a los genes el control de la senescencia. Se basan en el hecho de que genes denominados gerontogenes se instalaran cómodamente en el genoma de los seres vivos porque sus síntomas solo se aprecian después de la madurez sexual de dichos seres. Los alelos de este gen, por lo tanto, se volverían nocivos a partir de este momento, ya que poseerían la capacidad de adaptarse en edad temprana, característica conocida como *pleiotropia antagónica* (KIRKWOOD Y AUSTAD, 2000).

Existe una teoría que afirma que los animales no han sido capaces de evolucionar hasta su inmortalidad por el hecho de necesitar el direccionamiento de mucha energía en su procreación. Esa teoría es denominada *soma desechable* y se basa en el reparto de las fuentes metabólicas entre mantenimiento somático y reproducción. (KIRKWOOD, 1977; KIRKWOOD Y AUSTAD, 2000). Se observa en muchos estudios la comprobación de que la esperanza de vida de un individuo depende directamente de su capacidad de reparación del ADN, donde se observa un paralelismo entre los niveles de poly-ADP-ribosa polimerasa, importante para la integridad genómica y la longevidad (GRUBLE Y BURKLE, 1992).

El avance del conocimiento sobre la estructura celular, de los tejidos y

molecular aportó conocimientos suficientes para que se propusiera la teoría más aceptada actualmente, la teoría del estrés oxidativo.

A la excepción de aquellos organismos que viven en condiciones anaeróbicas, todos los animales y plantas necesitan el oxígeno que les permita producir la energía necesaria a su existencia, donde un 95% de la energía producida proviene de la mitocondria (CARDOSO, 2002).

La teoría del estrés oxidativo se basa en los daños en que molécula u organismo puede sufrir causados por especies reactivas del oxígeno. Tales especies, como los radicales libres y peróxidos, representan una clase de moléculas que son derivadas del metabolismo del oxígeno. Especies reactivas del oxígeno pueden ser generadas a partir de fuentes endógenas, como la generación en la mitocondria, por fosforilación oxidativa o a partir de fuentes exógenas, como las infecciones virales, bacteriológicas o fúngicas (KELLER y cols., 2000).

Se sabe que grandes concentraciones de oxígeno son dañinas a plantas y animales. El oxígeno es tenido como factor de los efectos dañinos de la radiación ionizante en células vivas. (...).

Los efectos del daño del oxígeno afectan casi todos los tejidos (...) pero el daño en sí depende de la especie reactiva en cuestión, del tejido afectado, de las condiciones fisiológicas, de la edad, de la dieta, entre otros (...).

De las varias explicaciones presentadas para explicar la toxicidad del oxígeno, la más diseminada describe los efectos del oxígeno a nivel de daño celular provocado por los radicales libres (...) que están presentes en más de sesenta disfunciones, como enfermedades cardíacas, cancro, cataratas, cáncer, entre otras. Son algunos de los principales factores de cambio con la edad y senescencia (...) (CARDOSO, 2002).

Un radical libre es cualquier compuesto, no necesariamente derivado del oxígeno, que contiene uno o más electrones desemparejados. De los radicales libres derivados del oxígeno se puede citar: el superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radicales peróxido (ROO^\cdot) y el radical hidroxilo (OH^\cdot). De los radicales derivados de nitrógeno se puede citar: el óxido nítrico (NO^\cdot) y el anión peroxinitrito ($ONOO^-$) (VERBEKE y cols., 2000).

En otras palabras, un radical libre es una especie química que posee número impar de electrones, lo que les confiere un carácter altamente reactivo, pues son termodinámicamente inestables y procuran ligarse a otras moléculas para desemparejar su electrón libre. Estos radicales pueden

ser producidos por exposición a agentes tóxicos, o por procesos enzimáticos (...) pudiendo propagarse indefinidamente, alterando a nivel molecular las estructuras celulares (...).

La mayor parte del metabolismo oxidativo se procesa en la mitocondria. Esta organela está estructuralmente separado del resto de la célula, presentando en su interior una gran cantidad de agentes antioxidantes (citoplasma presenta otros antioxidantes en menor concentración).

La teoría del daño oxidativo postula que la mayor parte de los cambios fisiológicos relacionado con la edad pueden ser atribuidas al daño intracelular causado por radicales libres, siendo en daño al ADN el más importante. Paralelamente fue comprobado que el control del daño oxidativo en *Drosophila* y *C. elegans* está directamente relacionado con le expectativa de vida (CARDOSO, 2002).

2.3 Fisiología del aporte energético óptimo al buen funcionamiento corporal

2.3.1 El aporte energético al organismo y al corazón:

El conjunto de reacciones químicas controladoras de los procesos biológicos del cuerpo humano es denominado metabolismo. Independiente de que clase de seres vivos, muchas de las reacciones básicas que se procesan en sus organismos son fundamentalmente las mismas. Tales reacciones necesariamente necesitan de “combustibles viables”, que, después de metabolizados, presenten residuos poco tóxicos.

La necesidad de energía se fundamenta principalmente en tres aspectos: *“la realización de trabajo mecánico en la contracción muscular, y otros movimientos celulares el transporte activo de iones y moléculas y la síntesis de macromoléculas y biomoléculas a partir de precursores sencillos”* (STRYER, 1988). A parte de la contracción muscular, el aporte energético también es responsable por la funcionalidad de todo el organismo. En el caso de músculo estriado cardíaco tiene que garantizar el aporte energético para que se efectúen las transmisiones de los potenciales de acción para que se efectúe correctamente la contracción cardiaca además de del control de los mecanismos especiales que determinan el ritmo de contracción. (GUYTON, 2003).

La repetición de las contracciones musculares y la exacerbación de la fuerza utilizada durante el ejercicio físico proporcionan el surgimiento de un estado de desgaste muscular denominado fatiga muscular, problema directamente asociado a la

depleción de glicógeno muscular. Clásicamente se puede afirmar que una parte expresiva de la fatiga muscular resulta, probablemente, “(...) *de la incapacidad de los procesos contráctiles y metabólicos de las fibras musculares de continuar produciendo la misma capacidad de trabajo*” (Cf. GUYTON, 1992). Esta incapacidad se muestra aun más disminuida a partir del momento que la transmisión neuronal es perjudicada por el ejercicio prolongado.

En el caso específico del corazón su trabajo de latido es la cantidad de energía que el corazón *convierte en trabajo durante cada latido al bombear sangre a las arterias* (GUYTON, 2003). Tal trabajo no se ve limitado como en el caso de los músculos, mencionado el párrafo anterior.

El trabajo por minuto es la cantidad de energía transformada en un minuto; esto es igual al trabajo del latido multiplicado por la frecuencia cardiaca por minuto.

Ese trabajo cardíaco adopta dos formas, la mayor parte, con diferencia, se utiliza en mover la sangre desde las venas de baja presión a las arterias de alta presión. Esto se denomina trabajo de volumen-presión o trabajo externo. En segundo lugar, una proporción menor de la energía se emplea para acelerar la sangre hasta su velocidad de expulsión a través de las válvulas aórtica y pulmonar. Esta es la componente de energía cinética del flujo sanguíneo del trabajo cardíaco (GUYTON, 2003).

El mantenimiento de las funciones corporales envuelve una gama de eventos asociados a la propagación de señales, liberación de sustancias y aberturas de canales iónicos. Otro factor limítrofe para la realización del proceso está relacionado con la obtención de la energía necesaria. Para eso entra en acción los sistemas metabólicos del organismo que son responsables por el aporte energético. Los mismos sistemas metabólicos corporales para todos los sistemas que necesitan de energía son equivalentes a los fornecidos para los músculos. Podemos afirmar que los límites del buen funcionamiento del organismo están vinculados a la disponibilidad de cada uno. Son ellos: el sistema fosfatógeno, el sistema glicógeno-ácido láctico y el sistema aeróbico.

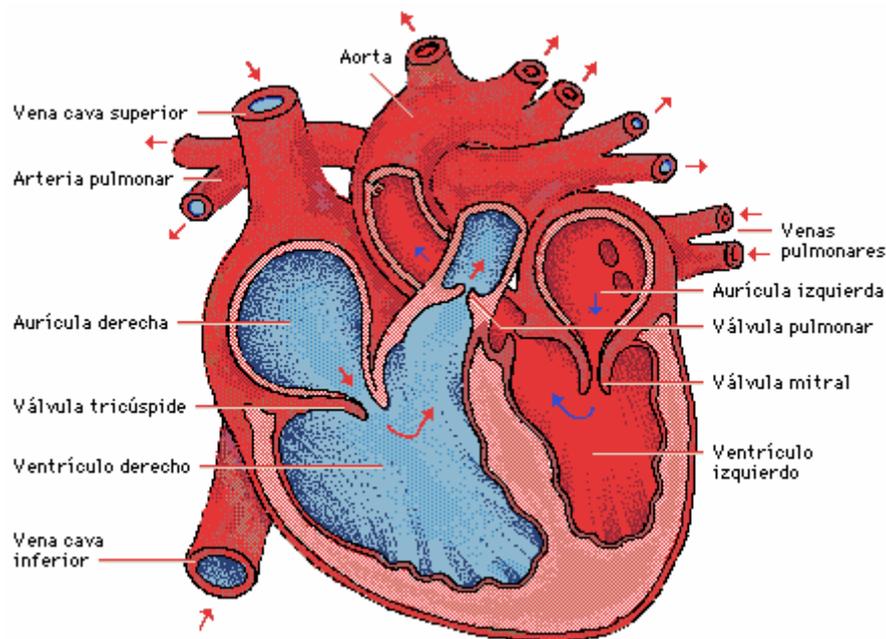


Figura 1 - Corazón humano: el corazón es una bomba doble en la que la sangre circula por dos sistemas cerrados y separados. La sangre cargada de oxígeno abandona el ventrículo izquierdo a través de la aorta. Circula por el cuerpo y retorna, desoxigenada, hasta la aurícula derecha por las venas cava superior e inferior. El ventrículo derecho bombea la sangre por la arteria pulmonar hasta los pulmones, donde intercambia dióxido de carbono por oxígeno. La sangre oxigenada retorna después por las venas pulmonares a la aurícula izquierda, lista para la circulación arterial.

Fuente: Enciclopedia Microsoft® Encarta® 2002.

2.3.2 Los sistemas intrínsecos productores de energía:

El músculo cardíaco utiliza la energía química para hacer el trabajo de contracción. La fuente energética proviene primordialmente del metabolismo oxidativo de los ácidos grasos, y en menor medida del lactado y de la glucosa (GUYTON, 2003).

El sistema fosfatógeno tiene como fuente básica de energía el ATP. Las ligaciones responsables por la presencia de los grupos fosfato, en especial las dos últimas, son ligaciones de alta cantidad de energía, almacenando cada una de ellas cerca de 7.300 calorías. Evidentemente esta energía potencial puede ser utilizada en los procesos de contracción muscular. El ATP, de acuerdo con la liberación de un grupo fosfato, pasa a ser denominado ADP, y la subsiguiente liberación del segundo grupo fosfato atribuye al compuesto restante la designación de monofosfato de adenosina

(AMP). Se verifica, además, que las cantidades almacenadas de ATP muscular son suficientes, mismo en atletas súper entrenados, para la generación de una potencia muscular máxima de apenas 3 a 5 segundos. La potencia corresponde a la cantidad de trabajo que un músculo puede ejecutar en un intervalo de tiempo dado, no siendo medido apenas por la *fuerza de contracción*¹ (entre 3 a 4 Kg/cm²), pero también por la distancia de contracción y del número de repeticiones realizadas por el atleta a cada minuto. La unidad de medida es, por tanto, dada en Kg-metro/minuto. Así, es imprescindible la formación continua de ATP, aquí representado en su fórmula básica:



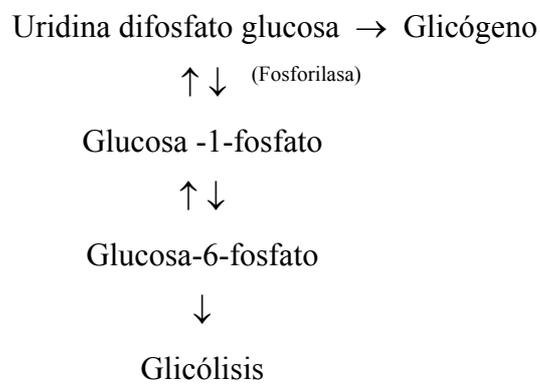
Dentro de ese sistema, existe una segunda fuente energética vinculada a la fosfocreatina (o creatina-fosfato) que también presenta ligación de alta energía con el fosfato. Su descomposición en creatina e iones fosfato libera energía superior a la conseguida con el ATP por unidad de fosfato, que sería en orden de 10.300 calorías. La fórmula básica de la fosfocreatina es la siguiente:



Esa energía es importante en la reconstitución de las ligaciones ricas en energía del ATP. Otra característica importante decae del hecho de que la cantidad de fosfocreatina almacenada es cuatro (4) veces mayor que la de ATP, estando disponible para ser liberada bajo forma de energía inmediatamente a las necesidades musculares. La asociación de los dos sistemas, ATP y fosfocreatina, es capaz de fornecer energía suficiente para 8 a 10 segundos, en términos de utilización de la potencia máxima muscular. Se puede afirmar, por tanto, que el sistema fosfatógeno es utilizado para ejercicios de duración corta que necesitan de toda la potencia muscular (carrera de 100 metros por ejemplo).

¹ La medida de la fuerza de contracción, de 3 a 4 Kg/cm² de área de sección transversal del músculo, es limitada por la cantidad de la hormona testosterona asociada al entrenamiento físico especial y alimentación equilibrada. Como ejemplo práctico podemos elucidar que un levantador de peso, según Guyton, que presenta el músculo cuádriceps con una área de sección transversal de 150 cm² podría realizar una fuerza contráctil capaz de sustentar cerca de 525 kg (en teoría) (Cf. GUYTON, 1992).

El segundo sistema proveedor de energía es el sistema glicógeno-ácido láctico, delimitado por la presencia del glicógeno, que en su descomposición en glucosa, actúa directamente como fuente directa de energía. La acumulación de glicógeno en los músculos y en otros órganos, tales como el hígado, caracterizan una gama de transformaciones sufridas por la glucosa, siendo el proceso denominado glicogénesis, donde la glucosa-6-fosfato pasa a glucosa-1-fosfato, con conversión subsiguiente en uridina difosfato glucosa y, consecuentemente, en glicógeno. Esquemáticamente tenemos:



El proceso inicial de esa descomposición es denominado de glicólisis, ocurriendo sin la participación del oxígeno, siendo, por tanto, un proceso anaeróbico² de obtención de energía.

La molécula individual de glucosa, durante la glicólisis, es transformada en ácido pirúvico, siendo llevado a las mitocondrias musculares para que sufra reacción, en esa segunda etapa, con él oxígeno para la formación de ATP. Cuando no hay la presencia suficiente de oxígeno para que se procese la oxidación, el ácido pirúvico es convertido en ácido láctico, siendo formadas cantidades menores de ATP que por oxidación, siendo equivalente a 1:18, de forma que “(...) 2 moléculas de ATP resultan de 1 molécula de glucosa al mismo paso que en la glicólisis aeróbica son conseguidas 38 moléculas de ATP por molécula de glucosa” (BIANCALANA y cols., 1985, p.263).

Este mecanismo anaeróbico tiene como característica importante la

² Más adelante se procesa la fosforilación oxidativa para la obtención de energía, proceso dependiente de la presencia de oxígeno.

capacidad de formar ATP con velocidad cerca de 2,5 veces mayor, comparativamente al proceso aeróbico, pero como evidenciado arriba, con gasto excesivamente mayor de glucosa. Ese es un mecanismo que propicia el aporte de energía necesaria a la mantención de la actividad muscular máxima por cerca de 1,3 a 1,6 minutos, además de los 8 a 10 segundos del sistema fosfatógeno (idealmente usado en los eventos como la corrida de 800 metros).

El tercer sistema energético es el sistema aeróbico, que depende de la oxidación de sustancias alimentares en las mitocondrias para fornecer energía. Sus principales fuentes de energéticas son la glucosa, los ácidos grasos y los aminoácidos provenientes de los alimentos. La combinación con él oxígeno promueve la liberación de cantidades increíbles de energía, capaces de convertir AMP y ADP en ATP. Se trata de un sistema capaz de mantener el trabajo muscular por tiempo “ilimitado”, o mientras haya la presencia de nutrientes en las células. En el sistema aeróbico el piruvato es transformado en Acetil coenzima A, entrando enseguida en el ciclo de Krebs para la obtención de ATP y energía.

Todo el sistema metabólico necesita de energía. Las principales fuentes energéticas de los sistemas metabólicos son condicionadas por una alimentación equilibrada. Las tres principales fuentes energéticas conocidas son los carbohidratos, los aminoácidos y los ácidos grasos.

(...) La ingesta energética diaria del organismo se destina a suprimir las necesidades del metabolismo basal, crecimiento, realización del trabajo muscular (actividad física) y reposición del dispendio energético relacionado a la ingesta de los propios alimentos (acción dinámica específica).

Mismo que factores tales como el stress emocional y las variaciones acentuadas de la temperatura ambiental puedan ocasionar alteraciones significativas en las necesidades energéticas, la actividad física es el principal factor responsable por la variación de la necesidad energética entre individuos del mismo sexo, edad, tamaño y composición corporal. (DONANGELO, 1982, p.110).

El gasto energético alterado por la intensidad y duración del esfuerzo físico es característica importante de cada tipo de deporte. Otro factor alterado de forma significativa hace referencia al tipo de sustrato energético utilizado como combustible para el metabolismo muscular.

Los indicios de que la utilización de proteínas, delante del ejercicio muscular

intenso no parecen ser evidentes, a excepción de las etapas iniciales de entrenamiento para el aumento de la masa muscular. Entre tanto, existe la convicción de que la utilización de proteína como sustrato energético no es deseable, pues este no es capaz de fornecer la energía adecuada sin la producción de metabolitos indeseables. Su utilización como sustrato solo es significativa cuando un individuo está delante de un ayuno prolongado o en estado de desnutrición.

La ingestión diaria de proteína debe ser al alrededor de 0,8 a 1 gramos / Kg de peso / día, de forma que un individuo de 70 kg necesita de 56 g de proteína por día. Las fuentes proteicas oriundas de animales y vegetales deben estar en la proporción de 1:1, contribuyendo con un 7% de energía consumida por el individuo.

Entretanto, cuando da ingestión sobresaliente de aminoácidos observamos que esos pueden ser utilizados como fuente energética al convertirse en ácidos grasos, cuerpos cetónicos y glucosa. Todo empieza a partir de la acción de una aminotransferasa que promueve la transferencia de un grupo alfa-amino de un alfa-aminoácido hasta un alfa-cetoácido.

Como ejemplos de esta reacción podemos citar la catalizada por la enzima aspartato aminotransferasa que inicia la transferencia del grupo alfa-amino del aspartato hasta la alfa-cetoglutarato liberando amonio (NH_4^+)³ además de formar oxaloacetato y glutamato. La alanina aminotransferasa promueve la transferencia del grupo amino de la alanina hasta el alfa-cetoglutarato, formando piruvato y glutamato. El oxaloacetato (que es un intermediario en el ciclo de Krebs) y el piruvato pueden ser dirigidos hasta el ciclo del ácido cíclico, para la formación de ATP.

(...) A medida que la intensidad del ejercicio aumenta y la duración disminuye, el sustrato energético de preferencia es el glicógeno muscular, dado que en esas condiciones la producción de ATP depende del aporte de las reservas de creatina fosfato y principalmente del metabolismo anaeróbico de los glúcidos, envolviendo el sistema de ácido láctico.

Si la intensidad del ejercicio disminuye y la duración aumenta, los lípidos se tornan un sustrato cada vez más importante en el metabolismo energético muscular. La producción de ATP en esas condiciones depende de los procesos oxidativos aeróbicos relacionados al consumo de oxígeno por el músculo. (DONANGELO, 1982).

La especialidad en cuanto a la necesidad de consumo de lípidos es inexacta,

³ El NH_4^+ será convertido posteriormente en urea en el ciclo de la urea.

exceptuándose la de los ácidos grasos esenciales y la de las vitaminas liposolubles. Los lípidos presentan alta densidad energética, buena estabilidad de almacenamiento, además de que son independientes al aumento adicional de agua, como los glúcidos. Su movilización desde los tejidos de reserva a los de utilización también es sencilla y eficiente.

Los lípidos pueden ser utilizados bajo la forma de ácidos grasos libres transportados por la sangre y derivados del tejido adiposo, o procedentes de las reservas de triglicéridos existentes en los propios músculos esqueléticos, siendo éste el que contribuye de manera más significativa al aporte energético.

Durante la realización de trabajos leves o moderados y durante el reposo, se observan contribuciones energéticas similares entre glúcidos y lípidos. Sorprendentemente, a medida que hay un aumento del trabajo muscular, aproximadamente del 60 al 70 % de la energía consumida puede ser originaria de los lípidos. Estudios realizados con atletas apuntan la necesidad de la ingestión de 30% de la energía diaria bajo la forma de lípidos, siendo 2/5 provenientes de alimentos de origen vegetal que presentan una mayor cantidad de ácidos grasos esenciales poliinsaturados.

Se observa, entre tanto, que la depleción de las reservas de triglicéridos del tejido muscular se relaciona con la duración de la actividad física y con la cantidad de las reservas iniciales de estos compuestos antes de la ejecución de la dicha actividad. Estudios futuros intentarán determinar la cantidad ideal de estas reservas, alterándolas cuando sea necesario mediante manipulaciones dietéticas, buscando, evidentemente, un beneficio en cuanto a la relación del ejercicio y de la producción energética.

Observamos inicialmente que los lípidos o grasas empiezan a ser utilizados por el organismo a partir del momento que sufren actuación de las lipasas, que son enzimas especializados en el rompimiento de las moléculas de triacilglicerol, por hidrólisis, convirtiéndolas en moléculas más simples. Este proceso es denominado de lipólisis. Evidentemente, el proceso depende de una gama de hormonas como *“la adrenalina, la noradrenalina, glucagón y la adrenocorticotropa que estimulan la adenilato ciclasa de las células adiposas* (STRYER, 1988). La lipasa es entonces activada por fosforilación, debido a su estimulación mediada por una proteína quinasa, previamente activada por el AMP cíclico. Entonces las hormonas producen la lipólisis auxiliada por un segundo mensajero, que sería el AMP cíclico.

La lipólisis genera la formación del glicerol, que sufre inmediatamente una

fosforilación, oxidándose a dihidroxiacetona fosfato, siendo isomerizada a gliceraldehído-3-fosfato⁴. En el final de este proceso el glicerol será convertido en piruvato o glucosa.

(...) La oxidación de los ácidos grasos de cadena larga en acetil-CoA es una vía central liberadora de energía (...). Los electrones (...) pasan a través de la cadena respiratoria mitocondrial y la energía liberada es utilizada en la síntesis de ATP. El producto de esta oxidación, el acetil-CoA, puede ser completamente oxidado hasta CO₂ a través del ciclo del ácido cítrico, resultando en la conservación de más energía. (...) En el hígado de los animales vertebrados el acetil-CoA puede ser convertido en cuerpos cetónicos – combustibles hidrosolubles transportados para el cerebro y otros tejidos, cuando la glucosa no está disponible. (Lehninger, 1995).

Según Lehninger, este mecanismo de oxidación es llamado de beta-oxidación, a través del cual los ácidos grasos son convertidos en acetil-CoA. Inicialmente, los ácidos grasos sufren una oxidación mitocondrial, sufriendo remociones sucesivas de dos unidades de átomo de carbono en la forma de acetil-CoA, comenzando por la extremidad carboxila de las cadenas del ácido graso. El resultado final es la conversión de cadena de 16 átomos de carbono del palmitato en 8 moléculas de acetil-CoA que sigue su camino hasta el ciclo del ácido cítrico.

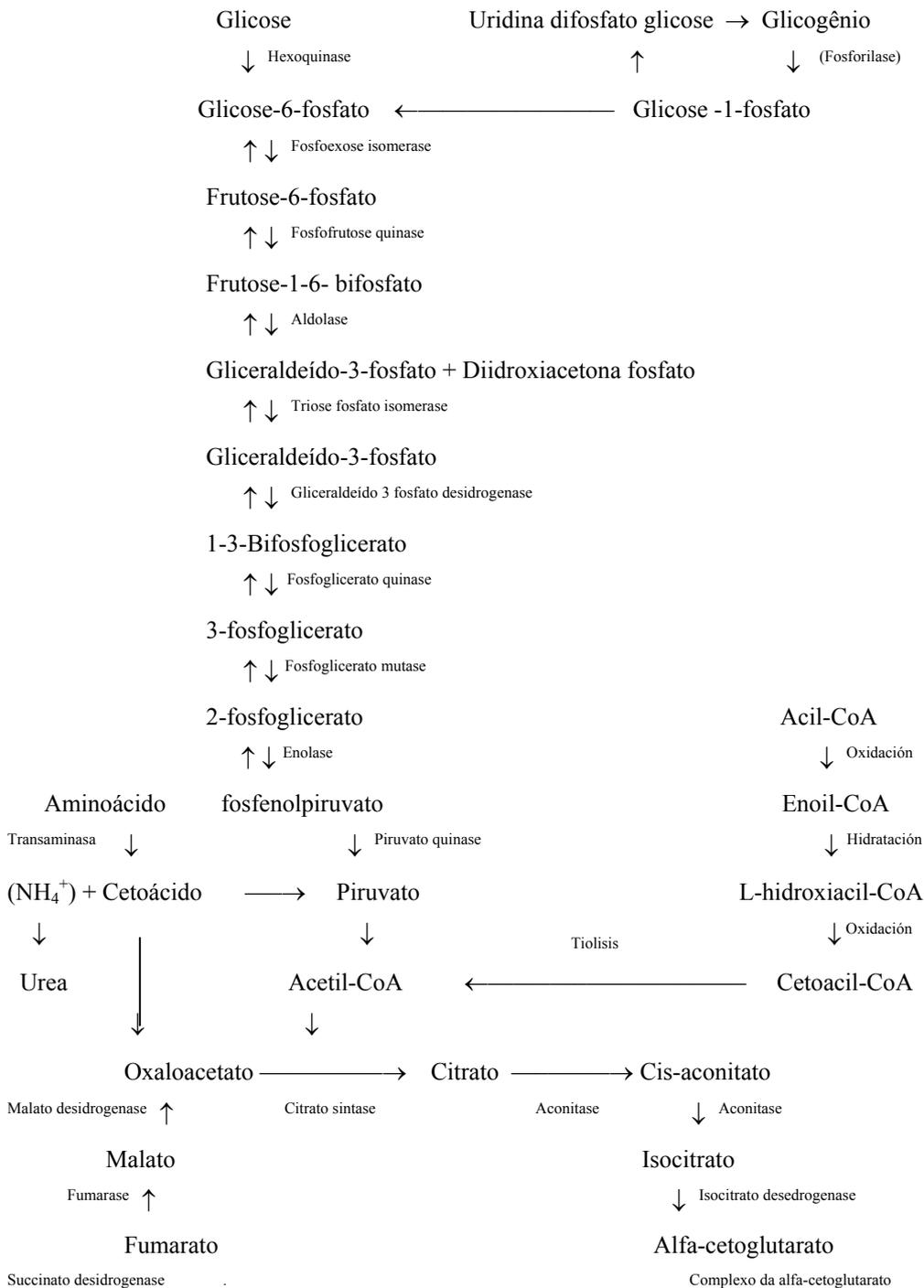
Primeramente una molécula de ATP promueve un “*enlace tioéster entre el grupo carboxilo de un ácido graso y el grupo sulfhidrilo del CoA. Esta reacción de activación (...) es catalizada por la acil-CoA sintetasa (...) para formar acil-CoA y AMP*” (STRYER, 1988).

(...) Hay un ciclo enzimático FAD y un NAD, que resuelta en un FADH₂ y un NADH₂ para cada acetil-CoA desdoblado a partir de los acil-Coa formados. El rompimiento es asociado a una reacción con una nueva molécula de CoA, resultando en formación de un éster de la molécula del ácido graso remaneciente, y el proceso se repite. El resultado final es la división de la molécula entera de ácido graso en fragmentos de acetil-CoA, listos para una nueva oxidación en el ciclo de Krebs, y formación de un FADH₂ y un NADH₂ por cada división.

⁴ El gliceraldehído-3-fosfato, además de estar presente en la lipólisis, puede ser encontrado en la glicólisis y en la gluconeogenesis

En resumen podemos identificar tres pasos principales en esas reacciones: (1) la formación de acetil-CoA de los ácidos grasos o piruvato; (2) la degradación del residuo de acetyl de la acetyl-CoA por el ciclo de los ácidos tricarboxílicos para generar CO₂ y átomos de hidrógeno; y (3) el transporte de los electrones del átomo de hidrógeno correspondiente hasta el oxígeno molecular en la cadena respiratoria. (ASTRAND y cols., 1980).

Glicólisis, ciclo del Ácido cíclico, metabolismo de proteínas y lípidos





Fuente: Glicólisis, ciclo del Ácido cítrico, metabolismo de proteínas y lípidos (Cf. Lehninger, 1995, Stryer, 1988).

2.3.3 El papel de la grasa y su influencia en el envejecimiento:

Los lípidos tienen como componentes mayoritarios los ácidos grasos, donde se observa la presencia mayoritaria de números pares de átomos carbonos. Los más comunes presentan 16 o 18, y ese número de átomos de carbonos, sea en los ejemplares más comunes o no, determinan sus propiedades, también influenciados por el grado de insaturación de la cadena. La fluidez de la membrana, por su vez, es determinada por los fosfolípidos que están formados por ácidos grasos de cadenas largas y insaturadas (STRYER, 1995).

Se puede afirmar que cuando mayor es el grado de saturación de un ácido graso mayor es la energía que se obtiene derivada de su oxidación. Partiendo de este raciocinio observamos que el organismo almacena entre sus triglicéridos una cantidad superior de ácidos grasos saturados. El almacenamiento de ejemplares insaturados se hace necesaria debido a la importancia de rebajar el punto de fusión de los triglicéridos dada la temperatura corporal, que tiene que ser suficiente para que estén en su estado líquido (STRYER, 1995).

Poseen función energética, debidamente explicada en tópico anterior, y además, función estructural, una vez que son componentes de las membranas biológicas, como también moduladores de la expresión génica (XU y cols., 2000).

La dieta nos aporta la mayoría de los ácidos grasos monoinsaturados y saturados sin contar la síntesis *de novo*. En contrapartida existen los ácidos grasos esenciales que provienen de la dieta, una vez que el organismo no posee sistemas enzimáticos capaces de sintetizarlos, dentro de los cuales se sitúa el ácido linoleico (C18:2n-6), el ácido α -linolénico (C18:3n-3), que son predecesores de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga presentes en las células animales.

La modificación de la cadena de los ácidos grasos endógenos y exógenos es una característica del organismo, de modo que podemos observar un aumento en el

número de carbonos (elongación) o del número de dobles enlaces (desaturación). Como mencionado arriba *“los mamíferos carecen de enzimas para producir dobles enlaces entre los átomos de carbono más allá de C-9 en la cadena de ácido graso. Por tanto (...) no pueden producir linoleato (18:2cis- $\Delta^{9,12}$) ni linolenato (18:3cis- $\Delta^{9,12,15}$). El araquidonato, un ácido graso 20:4 derivado del linolenato, es a su vez una fuente de muchas moléculas-señal enormemente activas como las hormonas prostaglandinas”* (STRYER, 1995).

Las elongasas son más eficaces para ácidos grasos insaturados, siendo capaces de formar cadenas de hasta 24 átomos de carbono. El producto saturado más común es el ácido esteárico (C18:0). Las desaturasas introducen, en el caso de los ácidos grasos insaturados, dobles enlaces en la posiciones 5y 6 ($\Delta^{5,6}$). En el caso de los saturados se observa que los introducen en la posición 9 (Δ^9). La determinación de tal posición, para fines ilustrativos, se produce a partir del grupo carboxílico terminal. *“La tasa de oxidación de ácidos grasos esta muy controlada por la disponibilidad de sustrato. “En el ayuno, el nivel de ácidos grasos libres aumente porque la lipasa de los adipocitos se ve estimulada por hormonas con la adrenalina o el glucagón”* (STRYER, 1995). Se observa que la insulina aumenta la actividad de las enzimas desaturasas⁵ $\Delta^{5,6}$. Las hormonas hiperglucemiantes, como el glucagón, la adrenalina o los glucocorticoides, disminuyen la actividad de tales enzimas (STRYER, 1995).

A seguir, en la siguiente tabla, se puede apreciar las diversas cantidades de diversos ácidos grasos en aceites y grasas:

Tabla 1- Cantidades de diversos ácidos grasos en aceites y grasas

Gramos de ácidos grasos por 100g			
Tipo de aceite	Saturados	Monoinsaturados	Poliinsaturados
Aceite de cacahuete (maní)	19	48	29
Aceite de cártamo	10	13	72
Aceite de coco	85	6,6	1,7
Aceite de colza	7	57	32
Aceite de girasol	12	20	63
Aceite de maíz	13	25	58
Aceite de oliva	14	70	11

⁵ La actividad de las desaturasa depende de factores hormonales y nutricionales.

Aceite de palma	45	42	8
Aceite de semilla de algodón	26	21	48
Aceite de soja	15	23	57
Manteca de cerdo	41	44	9
Mantequilla	54	20	2,6
Margarina blanda	25	31	22
Margarina dura	36	33	9
Margarina poliinsaturada	16	21	41
Sebo	48	32	2

Fuente: Biblioteca de Consulta Microsoft® Encarta® 2002. © 1993-2001 Microsoft Corporation

Con el paso del tiempo se observa una reducción de la fluidez de membrana de las células, debido a la alteración de su composición lipídica. Se observa una clara disminución de los ácidos grasos poliinsaturados; y un aumento del colesterol y de ácidos grasos saturados (CHEN, 1994). Se observa, en el caso de ratas ancianas, una reducción en un 28% en la concentración de cardiolipina, localizada en la membrana mitocondrial interna (PARADIES y cols., 1990). Este cambio en la composición altera la actividad de varias enzimas como la chito romo c reductazo, chito romo c oxidasa y ATP sintestasa (BARZANTI y cols., 1994).

En el caso de hígado, en ratas, se observó una reducción en la capacidad de peroxidación lipídica en 12 y 26 frente a 2 meses. En cuanto a la composición lipídica, en esas edades, hubo alteraciones en las concentraciones de algunos ácidos grasos de C₁₈, de C₂₀ y de C₁₈, reduciendo la sobretodo la concentración de ácidos grasos poliinsaturados, en especial el linoleico, tanto en colesterol esterificado, como en los triglicéridos y en el ácido graso libre. En fofolípidos se observó la disminución del ácido araquidónico. El aumento de ácidos grasos saturados, como el ácido palmítico, en ácido graso libre y colesterol esterificado; y del ácido oleico en triglicéridos y fosfolípidos también fue observado. Otros hallazgos determinan una clara reducción de actividad de la Δ^6 desaturasa y aumento de la Δ^9 desaturasa en ratas de 13 meses en comparación con ejemplares de 3 meses. Con la edad se observa un aumento de los ácidos grasos libres y del colesterol libre, exactamente de la misma forma como cuando hay una deficiencia de ácidos grasos esenciales (TERAO y cols.,1991). Se observa una mayor facilidad en el transporte del colesterol esterificado debido al grado de insaturación, lo que crea una mayor fluidez y mayor estabilidad estructural de los fosfolípidos. La disminución de la desaturación llevaría a una reducción de la capacidad

de peroxidación lipídica. Sin embargo, la susceptibilidad de los tejidos a capacidad de peroxidación lipídica depende a otros importantes factores como el estado metabólico y del equilibrio prooxidante-antioxidante (IMRE y cols., 1990).

2.3.4 Las membranas biológicas y su relación con la grasa derivada de la dieta.

Algunas sustancias, como las proteínas, tienen su contenido celular definido en parte por un componente genético. En el caso de las grasa eso no ocurre, de forma que factores como la edad, el estado fisiológico, tipo celular, capacidad antioxidante, actividad metabólica, y como no, la dieta son determinantes para determinar tales cantidades a nivel celular. Por ese raciocinio, es determinante que la grasa adquirida por la dieta afecte de forma preponderante la composición de los ácidos grasos de los lípidos titulares. El tipo de grasa afectará en todos los niveles la formación de ácidos grasos, donde su composición, los factores genéticos, los factores de regulación y la adaptación al medio serán los que guiaran el organismo a alterar el contenido celular de diferentes ácidos grasos en los diferentes órganos y tejidos corporales (CLANDININ y cols., 1985; QUILES y cols., 1999).

Según Quiles, el ácido graso mayoritario se ve expresado cuando la grasa de la dieta modifica la composición lipídica de la membrana. El sistema de la desaturasa también contribuye para tal evento a través de la inhibición de los distintos componentes de las diferentes series de ácidos grasos. Sin embargo es importante mencionar que los tejidos son distintos, de forma ese fenómeno es observado de forma distinta en las varias membranas biológicas presentes en el organismo (MATAIX y cols., 1998).

Algunos ácidos grasos son transformados en los tejidos animales en ácidos grasos poliinsaturados. Entre de los ácidos grasos observamos distintas series. La separación en series se hace de acuerdo con la posición del último doble enlace observado en cada miembro del grupo. El ácido linoleico, linolénico y el oleico dan origen a tres series importantes, la serie n-6; n-3; y n-9, respectivamente, una vez que el último doble enlace esta en los átomos 6; 3; y 9 de cada ácido graso formado.

El ácido linoleico es precursor del dihomogammalinolenico (C20:3n-6), que por su vez precede la formación de las prostaglandinas tipo1 y del ácido araquidónico

(C20:4n-6), que por su vez antecede la formación de las prostaglandinas tipo 2.

El ácido linolénico precede al ácido eicosapentaenoico (EPA; C20:5n-3), precedente de las prostaglandinas tipo 3. Otro miembro de la serie n-3 es el docosahexaenoico (DHA; C22:6n-3) y posee papel importante en el desarrollo del cerebro y retina.

El ácido oleico en condiciones normales, tiene su cantidad en proporciones pequeñas en comparación con otros lípidos titulares. Sin embargo su importancia y proporción aumentan significativamente cuando observamos una reducción en los niveles de los ácidos grasos esenciales. Tal hecho puede ser comprobado, por ejemplo, cuando observamos un aumento tisular de los niveles titulares del ácido 5;8;11 eicosatrienoico (C20:3n-9) en sustitución del ácido araquidónico en tales circunstancias. A partir del ácido palmítico y esteárico, por acción de la Δ^9 desaturasa, se forman en el organismo el palmitoleico (C16:1n-9) y el oleico (C18:1n-9) y a partir de del fenómeno de la elongación se forman los demás representantes de los ácidos grasos monoenoicos. Su importancia se ve vinculada a al formación de la mielina cerebral (TERAO y cols., 1991).

Tabla 2- Los distintos componentes de las series n-6; n-3; y n-9

Ácidos Grasos					
n-6		n-3		n-9	
Linoleico	C18:2n-6	Linolénico	C18:3n-3	Oleico	C18:1n-9
Eicosatrienoico	C18:3n-6	Eicosatrienoico	C20:4n-3	Eicosadienoico	C20:2n-9
Eicosatetraenoico ⁶	C20:4n-6	Eicosapentaenoico ⁷	C20:5n-3	Eicosatrienoico	C20:3n-9
Docosatetraenoico	C22:4n-6	Docosapentaenoico	C22:5n-3	Docosatrienoico	C22:3n-9
Docosapentaenoico	C22:5n-6	Docosahexaenoico ⁸	C22:6n-3	Docosatetraenoico	C22:4n-9

Varios estudios demostraron que el aceite de oliva estimula a la formación de membranas donde prospera la presencia de ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3 si comparamos con dietas ricas en aceite de de girasol como fuente de grasa (GIRÓN y cols., 1992; NAVARRO y cols., 1994; ESCUDERO y cols., 1998). Se observa también una disminución en los ácidos palmítico y esteárico, y también un

⁶ Ácido araquidónico

⁷ EPA

⁸ DHA

significativo descenso del ácido linoleico y araquidónico en plasma y otros órganos (PERIAGO y cols., 1990). Sin embargo, el aceite de oliva como fuente en la dieta estimula los contenidos de los ácidos grasos monoinsaturados en membranas y una mayor actividad de la Δ^9 desaturasa.

Se observan niveles más bajos de ácidos grasos insaturados en dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados, como el ácido oleico por ejemplo, si comparamos con dietas que presentan cantidades de representantes de la serie n-6 (poliinsaturados) y ácidos grasos saturados (SPECTOR y cols., 1985; MASI y cols., 1986; SEIQUER y cols., 1996).

Algunos estudios determinaron que no hay diferencia entre las proporciones de ácidos grasos saturados e insaturados en fosfolípidos de membrana en ratas alimentadas con tres fuentes de grasa distintas, lo que nos lleva a suponer que el cambio no estaba vinculado al número de moléculas de ácidos grasos insaturados y si en la saturación de la misma (HUERTAS y cols., 1991).

Se determinó también, a través de estudios específicos, que la posible causa del efecto de la dieta en la composición tisular de ácidos grasos se debía a una competencia entre los diversos grupos, poliinsaturados, monoinsaturados y saturados por sistemas enzimáticos, tanto en la elongación, como en la desaturación, sin desconsiderar otros factores como la susceptibilidad a la peroxidación, por parte de la membrana, en órgano en cuestión, la fluidez de membrana, de los receptores específicos, etcétera. Se demostró que existe una afinidad específica de desaturasa Δ^9 por los ácidos grasos que presentan mayor número de doble enlaces ($C18:1n-9 < C18:2n-6 < C18:3n-3$) lo que en teoría explica en parte los niveles más bajos de derivados n-9 en células eucariotas.

En dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 se observó el traslado de ácidos grasos n-6, también poliinsaturados. Existe un cociente entre dos series n-9/n-6 que sugiere que los ácidos grasos de la serie n-9 tienen más facilidad en ser incorporados en detrimento a los de serie n-6. *“Dietas ricas en saturados en ácidos grasos saturados incrementan los niveles de ácidos grasos monoinsaturados y las ricas en ácidos grasos poliinsaturados n-3 aumentan la relación n-3/n-6”* (AYRE y cols., 1997).

El mantenimiento de la fluidez de membrana se mantiene en los mamíferos gracias a un mecanismo homeostático de control y compensación que mantiene una relación óptima entre la proporción de ácidos grasos saturados e insaturados (GIBSON

y cols., 1984; GIRÓN y cols., 1992; QUILES y cols., 1999). Ese raciocinio se demuestra una vez que en varios estudios, donde mismo que se efectuara un cambio grande en la dieta cuanto a la saturación de grasa aportada, no se observaba una variación tan expresiva en la saturación de los lípidos de membrana ya que un aumento en la serie n-6 provoca una disminución en la serie n-3; y viceversa. (HUERTAS y cols., 1991; QUILES y cols., 1999).

El Dr. Quiles también observó, en otro estudio, que en ratas alimentadas durante ocho semanas, con una cantidad de grasa (aceite de oliva) equivalente a 8% del total, presentaron cambios en el ácido esteárico. Los niveles de ácido graso monoinsaturados fueron superiores en las ratas alimentadas con aceite de oliva en comparación con las alimentadas con aceite de girasol. Los n-6, por lo tanto poliinsaturados, presentaron niveles superiores en membranas mitocondriales de los ejemplares tratados con aceite de girasol. Los n-3 fueron superiores en el grupo alimentado con oliva virgen. Tal resultado fue justificado basándose en la competición de series.

La peroxidación lipídica, causada por radicales libres, en la membrana mitocondrial de ratas, sufre una modulación cuanto a la susceptibilidad a dicha peroxidación, cuando de la ingesta de ácidos grasos monoinsaturados. Los ácidos grasos poliinsaturados parecen también ejercer un papel importante en la peroxidación. Se intentó averiguar la adaptabilidad de distintos órganos a dietas diferentes cuanto a la fuente de grasa. Parece ser que algunos órganos como el hígado y el músculo se adaptaron más al perfil lipídico que el corazón. La formación de radicales libres dependió, en mayor grado, del tipo de tejido y menos de la dieta en hígado en músculo. En corazón ya no ocurrió tal fenómeno. El α -tocoferol tuvo acción antioxidante menos significativa que los ácidos grasos monoinsaturados contra la peroxidación lipídica. (MATAIX, 1998).

La acción antioxidante, contra la peroxidación lipídica, se observa importante en corazón, cuando los individuos son alimentados con dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados, como lo observado en dietas que tienen el aceite de oliva como fuente de grasa. Ese efecto protector se explica por la modulación de la membrana fosfolipídica que presenta mayores cantidades de dichos ácidos grasos (HUERTAS, 1999).

Siendo más específico cuanto a la acción como moduladores de membrana y tejidos específicos de los ácidos grasos monoinsaturados, se observa en varios estudios

que los niveles de C14:0 son equivalentes en todos los grupos de ratas, C16:0 varían con la dieta y los C18:0 dependen más de la adaptabilidad de los tejidos. Así, en animales que reciben dietas donde la fuente de grasa presenta cantidades superiores de C16:0, los niveles de ácidos grasos monoinsaturados se ven aumentados, lo que supone una estimulación a la actividad de la Δ^9 desaturasa. *“Se observa, en músculo, que el ácido oleico (C18:1n-9) debido a una menor capacidad de síntesis y/o incorporación por el músculo no es desplazado por los ácidos grasos poliinsaturados n-6 ni n-3. Los niveles de ácido linoleico (C18:2n-6) son dependientes del aporte de este en la dieta, sin embargo, el ácido araquidónico (C20:4n-6) es dependiente de las necesidades del tejido, por tanto, aun que el C18:2n-6 abunde, no se transforma en C20:4n-6”* (SORINGUER, 2000).

Siguiendo algunos principios podemos decir que la composición en ácidos grasos de las membranas biológicas varía, en función del tipo de fuente de grasa administrado en la dieta. Siguiendo algunas directrices;1) observamos que hay una tendencia a que la proporción de ácidos grasos saturados se mantenga estable, como en C18:0, que tiene sus concentraciones mayormente dependientes de las necesidades de cada tejido. En el caso del C16:0 ya se observa una adaptabilidad de acuerdo con la composición de la dieta, con especial capacidad de activar la Δ^9 desaturasa. 2) En dietas ricas en ácidos grasos de la serie n-9 se observa una propensión al aumento de ácidos grasos monoinsaturados, principalmente cuando se administra ácido oleico. 3) En el caso de la serie n-6, sus niveles en membrana solo parecen aumentar cuando se administra en la dieta gran cantidad de sus representantes. 4) La serie n-3 se hace presente cuando se administra buenas cantidades de sus ejemplares, o cuando hay una deficiencia de n-6, una vez que compiten las dos series por la Δ^6 desaturasa, lo que condiciona el cociente n-3/n-6. (MARTIN y cols., 2002).

2.3.5 La importancia de la grasa en la dieta para la manutención de la salud

Dentro de los experimentos realizados donde la fuente de grasa en la dieta es objeto de estudio, hay un consenso general de que las dietas ricas en ácidos grasos saturados son menos benéficas a la salud. Se ha demostrado que están directamente asociadas al surgimiento de estados patológicos, como la aterosclerosis, debido a

alteraciones en el metabolismo lipídico (NAVARRO y cols., 1992). Tales ácidos grasos están presentes en fuentes de grasas animales, como la manteca de puerco.

También es verdad que fuentes de grasas prioritariamente poliinsaturadas presentan actividad antiaterogénica. Normalmente están presentes en fuentes de grasa vegetales, como el aceite de oliva o de girasol, y también, contradictoriamente, por tratarse de una fuente animal, en el aceite de pescado. Está demostrado que hay una sensible disminución en los niveles plasmáticos de colesterol LDL y plasmático en dietas ricas en grasas insaturadas y poliinsaturadas si comparamos con las dietas ricas en grasa saturada también se demuestra que las dietas monoinsaturadas promueven una mejoría defensiva cuanto al daño oxidativo provocada por radicales libres en comparación con dietas poliinsaturadas. Así afirmamos que el grado de saturación de los lípidos ingeridos condiciona mucho la salud del individuo. Es importante mencionar que la saturación de los lípidos de la dieta también afecta sensiblemente la respuesta inflamatoria, por condicionar la actividad de las moléculas de adhesión y de otros factores inflamatorios (AGUILERA y cols., 2001).

La producción de eicosanoides derivados del eicosapentanoico (EPA) se produce debido a la ingesta de derivados de la serie n-3. Su acción antitrombogénica queda patente debido a que esos ácidos grasos poliinsaturados estimulan la formación de prostaciclina PGI_3 , de acción antiagregante plaquetaria y vasodilatadora. También estimula la formación de tromboxano TXA_3 , de acción proagregante y ligeramente vasoconstrictora. El EPA, juntamente con el docosahexanoico (DHA), también inhibe la formación de la prostaciclina PGI_2 , a partir del ácido araquidónico. Tal prostaciclina tiene efectos similares a la PGI_3 . También inhiben el tromboxano TXA_2 , vasoconstrictor y estimulador de agregación plaquetaria. Con eso queda patente su efecto antitrombogénico, lo que demuestra la importancia del aceite de pescado, tan consumido en poblaciones orientales, como china y Japón, que presentan incidencia de enfermedades cardíacas inferiores a países de cultura occidental. Este comportamiento también es similar cuando administrado el ácido oleico, proeminente en el aceite de oliva, pero con menor grado de eficacia. (NAVARRO y cols., 1992; SIRTORI y cols., 1998).

2.3.6 El sistema digestivo y su vinculación con las fuentes grasas

La utilización del aceite de oliva como fuente grasa trae considerables beneficios al tracto digestivo, directamente relacionada a las secreciones gástricas (biliar, gástrica y pancreática). Se ha descrito que tal fuente de grasa reduce la acidez intragástrica en dietas híbridas de este aceite frente a ejemplares poliinsaturados (SERRANO y cols., 1997).

En ámbito intestinal se ha demostrado que el efecto de los eicosanoides frente a la respuesta inflamatoria beneficia en casos de enfermedad inflamatoria intestinal al cambiar el medio lipídico y por aumentar la protección contra los procesos de peroxidación lipídica. En efecto, el aceite de oliva altera las cantidades de algunos péptidos gastrointestinales (gastrina, PP, CCK, PYY) relacionados a la enfermedad., probablemente por idear niveles óptimos de dichas sustancias (YAGO y cols., 1997). *“También reduce la producción de citoquinas, la expresión de las moléculas de adhesión y los niveles de otros marcadores endoteliales en esta patología. Los ácidos grasos monoinsaturados y los compuestos fenólicos del aceite de oliva son candidatos a incrementar el umbral de apoptosis de células intestinales disminuyendo la necrosis, ejerciendo un papel protector”* (MATAIX, 2001).

2.3.7 El efecto de las fuentes grasas sobre la diabetes

La reducción de la glucosa en la sangre es una característica marcante en individuos que hacen uso de esta fuente de grasa en la alimentación. Eso se justifica por el hecho de que la glucosa es mejor utilizada por el organismo con una menor necesidad insulínica. Al compararse una dieta rica en grasa monoinsaturada y otra rica en carbohidratos, en pacientes diabéticos tipo 2, se observó que la dieta rica en ácidos grasos proporcionaba una reducción en los niveles de glucosa en períodos de ayuno y postprandial, sin provocar alteración en los niveles en el período de ayuno de insulina. Cuando a las necesidades diarias se observó una reducción en tal necesidad, además de una reducción en los niveles de glucosa e insulina de 24 horas (GARGO, 1998).

2.3.8 Efectos sobre el cáncer

Según el Dr. Quiles para relacionar las grasas alimentarias y el cáncer es necesario tener en cuenta el tipo de grasa, su composición cuanto a los ácidos grasos presentes, su calidad y cantidad administrada. La relación entre la generación del cáncer y la grasa es elucidada experimentalmente donde se afirma que la ingesta de componentes poliinsaturados de la serie n-6 puede marcar la diferencia entre la causa originaria de la enfermedad. Se afirma que la ingesta inferior a 8% del peso de la dieta en forma de grasa permite que se observen diferencias entre el efecto cancerígeno de los ácidos grasos. Una ingesta superior a 8% equipara tal efecto a todos, de forma que no se observan diferencias a partir de este límite entre las capacidades de promover un efecto cancerígeno.

A partir de estas afirmaciones, parece ser que el aceite de oliva tiene ventajas claras cuando hablamos de efecto carcinogénico. La vinculación en un principio entre el cáncer y la grasa está vinculada a la producción de radicales libres limitados por la insaturación de la grasa. El aceite de oliva posee antioxidantes naturales por su contenido en α -tocoferol (vitamina E) y en polifenoles, cuyo componente principal es el tirosol que ayuda en la inactivación de los RL formados. Si hablamos de estados más avanzados de la enfermedad, cuando se requiere una vascularización específica para el crecimiento del tumor, con una evidente alteración del estado inmunitario, podemos afirmar que varios metabolitos del ácido araquidónico tienen papeles importantes cuanto a su desarrollo. El aceite de oliva promueve una menor estimulación al crecimiento del tumor, por originar una producción menor de PGE_2 , que es derivada del ácido araquidónico, que por su vez se origina de los derivados del ácido linolénico. Eso se debe porque el aceite de oliva es rico en ácido oleico (monoinsaturado) y pobre en linoleico y linolénico (poliinsaturados) (ROSE, 1997; QUILES y cols., 2001; AGUILERA y cols., 2001)

2.4. El CoQ₁₀

2.4.1 Es descubrimiento del CoQ₁₀

Dentro de la cadena respiratoria mitocondrial encontramos un componente,

definido químicamente como representante de las quinonas liposolubles, que desempeña papel clave en la síntesis del ATP durante el proceso de fosforilación oxidativa. Fue descubierta en 1995, por Fernenstein y sus colaboradores, recibiendo el nombre de ubiquinona. Sin embargo, en 1957, Crane descubrió un compuesto denominándolo como coenzima Q₁₀ (CoQ₁₀). Folkers y sus colaboradores determinaron la estructura de la CoQ₁₀ y de la ubiquinona eran similares. Independientemente de hecho de que sea acreditada desde la década de cincuenta, el conocimiento y comprensión de su mecanismo de funcionamiento en los sistemas biológicos y en enfermedades es aún limitado, de forma que su uso terapéutico no está completamente evaluado. Terapéuticamente se trata de una sustancia que es y/o fue utilizada en neuropatías, miopatías, perturbaciones inmunológicas y el síndrome de fatiga crónica.

2.4.2 La síntesis y distribución de la CoQ₁₀

Uno de los productos terminales de la vía del mevalonato, juntamente con el colesterol y el dolicol, es la CoQ₁₀. Está presente en los tejidos de todos los organismos superiores. Su síntesis *“incorpora la formación de una cadena lateral de isoprenoide de la acetil-CoA y el agregado de quinona a través de la vía que utiliza la tirosina o fenilalanina como sustrato”* (MARASCO y cols., 1999).

Su transporte, cuando se analiza la distribución de en la circulación sanguínea, revela que cerca de 60% de esta molécula es transportada por el LDL y menos de 30% por el HDL₂. Sin embargo, se observa que la imposibilidad de recibir la ubiquinona de una fuente exógena hace con que los tejidos corporales la sintetizen, ya que están preparados para ello. Es importante mencionar que la CoQ₁₀ de origen endógena no es transportada y redistribuida en el organismo. Como fuente exógena destacamos la carne y las aves como sus principales fuentes, sin perder de vista que para el ser humano su producción endógena es la más importante. Cuando de su suplementación oral observamos un aumento en sus niveles plasmáticos, con picos de concentración observados entre la quinta y décima hora de su ingestión.

Su alto peso molecular y su escasa hidrosolubilidad hacen con que su absorción por el tracto gastrointestinal sea lenta. A los cuatro días del principio de su ingesta se obtiene un 90% de los niveles estables. Su bajo nivel de clearance plasmático,

su vida media en la sangre es de hasta 34 ± 5 horas. Su excreción se hace en su mayoría por el tracto biliar. Se argumenta que el destino de la CoQ_{10} , cuando ingerida oralmente, se procesa en las organelas subcelulares, sobretodo matriz mitocondrial y membranas internas después de aproximadamente 72 horas. “*Las concentraciones tisulares de CoQ_{10} varían sustancialmente entre los distintos órganos; las mismas parecen ser mayores en tejidos aeróbicos con alto metabolismo, y por lo tanto, con mayor capacidad de producir radicales libres (RL)*” (MARASCO y cols., 1999).

2.4.3 Mecanismos de acción del CoQ_{10} .

Dentro de la cadena respiratoria mitocondrial, la CoQ_{10} desempeña el papel de transportador de electrones el NADH y la succinato dehidrogenasa y el sistema de citocromos. Su acción le convierte el carácter de “*agente de transferencia de protones (redox) cuando entra en un ciclo de óxido-reducción en la cadena de transporte mitocondrial, donde se la encuentra presente como semiquinona, en adición a su forma totalmente oxidada (ubiquinol, $\text{CoQ}_{10} \text{H}_2$) u oxidada (ubiquinona, CoQ_{10})*” (MARASCO y cols., 1999).

Como mencionado arriba, la CoQ_{10} es transportada por lipoproteínas en la circulación, en su mayor forma reducida, como ubiquinol. Tal compuesto se comporta como agente oxidante, al reducir el nivel oxidativo de los ácidos grasos transportados en las lipoproteínas, lo que le permite, durante esos procesos, convertirse en ubiquinona.

En situaciones de estrés oxidativo, donde el plasma es sometido a un estrés oxidativa, observamos que la primera sustancia antioxidante a ser consumida es la ubiquinona. Se le asigna a la CoQ_{10} un papel importante en la prevención de la iniciación o propagación de la peroxidación lipídica en el plasma y en las lipoproteínas de membrana. Además, cuando hablamos de daño a las bases nucleicas del ADN, se comprueba su acción protectora durante tal oxidación.

El estrés oxidativo mediado por el fenómeno de isquemia/repercusión parece sufrir una acción antioxidante importante por parte de la CoQ_{10} . En algunos estudios, en modelos animales, demostró que la ubiquinona es capaz de promover una acción protectora a respecto de la hiperactividad coronaria de la isquemia/reperfusión. Se afirma que la administración previa de CoQ_{10} previno en cambio de las funciones

normales del endotelio cardíaco, sin mencionar la reducción, a su vez, del nivel de radicales libres en principio de la repercusión. En un modelo canino se observó que la producción de malondialdehído fue totalmente eliminada, además de la reducción del daño oxidativo en una situación de isquemia/repercusión en perros tratados con la CoQ₁₀. (YOKOYAMA y cols., 1996).

La administración in vivo en conejos mejoró su capacidad de producción de ATP, además de garantizar la manutención de los niveles de estos fosfatos, debido a una mejor preservación de la función contráctil del miocárdio, junto con una reducción en la liberación de creatina fosfoquinasa, en el fenómeno de isquemia/reperfusión. También hay estudios que evidencian, con el tratamiento con CoQ₁₀, en modelos de corazón aislado, una mejora en la función diastólica durante la reperfusión, el mantenimiento de los niveles elevados de ATP, la preservación de la vasodilatación coronaria producida por el nitroprusiato de sodio y aumento en el flujo coronario. *“La mejoría de la mecánica cardíaca y la recuperación metabólica con la administración de CoQ₁₀, ha mostrado que ésta atenúa la sobrecarga intracelular de calcio, que suprime la fosforilación oxidativa en la mitocondria”* (MARASCO y cols., 1999).

En análisis de microscopía electrónica de corazones tratados con ubiquinona reveló niveles bajos fosfato de calcio en la matriz intramitocondrial de células de corazones, lo que evidencia una prevención cuanto a ala sobrecarga de calcio (MATSUMOTO y cols., 1984).

Cuanto al envejecimiento, se demostró que los niveles más altos de CoQ₁₀ se producen en los humanos en la edad aproximada de 20 años, presentando un declive con el paso del tiempo, lo que indica su relación con patologías asociadas a él cuando de la incapacidad del organismo de mantener los niveles de CoQ₁₀ y de sus defensas antioxidantes.

2.4.4 La insuficiencia cardíaca y su relación con la utilización del CoQ₁₀.

Los niveles sanguíneos y del tejido miocárdico de CoQ₁₀ en pacientes con insuficiencia cardíaca son más bajos cuando se compara con sujetos libres de tal enfermedad. En un experimento pionero, *“Langsjoen; (...) halló una mejoría sintomática y de la fracción de eyección en 19 pacientes en CF III y IV de la NYHA,*

luego de la administración diaria de 100 mg de CoQ₁₀ por vía oral. En el protocolo se estableció un primer período de 4 semanas de estabilización de los pacientes, que luego fueron seleccionados en forma aleatoria para la administración de CoQ₁₀ o placebo, durante 12 semanas; al término de este lapso, se cruzaron nuevamente los tratamientos durante otras 12 semanas”(MARASCO y cols., 1999). Con ese estudio se observó una mejoría del cuadro clínico de la insuficiencia cardíaca una vez que la función ventricular mejoró notablemente, lo que posibilitó a los enfermos una mejoría en su calidad de vida. Esos pacientes también tuvieron una mejoría, en menor grado, con la relación a la tolerancia al ejercicio, evaluada con cicloergómetro.

2.5. La mitocondria, su identificación y estructura

La identificación y la determinación de las organelas celulares y de sus funciones sólo fueron posibles a partir de los años 40. Los avances tecnológicos y desarrollo de nuevas técnicas de aislamiento permitieron dividir la célula en compartimentos definidos y limitados. Así se pudo investigar más detalladamente el origen de las organelas, sus funciones celulares y los estudios bioquímicos de los caminos metabólicos.

El aislamiento de la mitocondria ocurrió en 1932 en experimento realizado por Bensley y Hoerr. Separaron una *“fracción granular de hígado de cobayo que identificaron como mitocondrias. Si bien las fracciones aisladas no dieron resultados satisfactorios al aplicar criterios utilizados para la determinación in situ de estas organela Así, Claude, en 1940, aisló una fracción enriquecida en mitocondrias, aunque dañadas por el medio de suspensión utilizado (solución salina) y extensamente contaminada con gránulos secretorios”* (ALVAREZ y cols., 2000).

Otro intento de aislamiento de mitocondria ocurrió en 1939, en el Instituto de Fisiología de la Facultad de Medicina en la Universidad de Buenos Aires. Leloir y Muñoz, utilizaron una cámara de neumático de automóvil llena con hielo y sal y una centrífuga de mesa refrigerada⁹. Con eso promovieron el aislamiento de una fracción

⁹ Se convirtió en un experimento de difícil reproducción, visto que las condiciones del experimento no eran fáciles de controlar y reproducir, lo que indica de la coleta de datos no podía ser totalmente fiables.

granular de hígado de rata que oxidaba ácido butírico. Hasta ese momento no se había reportado nunca algún informe de oxidación de ácidos grasos por una preparación subcelular. Finalmente en 1948, a las mitocondrias les fue identificada su función de productora de energía mediante la respiración celular. *“Hogeboom, Schneider y Palade incorporaron sacarosa hipertónica en el medio de aislamiento con el fin de estabilizar las mitocondrias. Ese mismo año, Green, Loomis, y Auerbach demostraron que el sistema del ácido cítrico se hallaba asociado a la fracción mitocondrial, y Lehninger describió la localización del ciclo del ácido cítrico y la oxidación de ácidos grasos en las mitocondrias”* (ALVAREZ y cols., 2000).

Con el desarrollo del microscopio electrónico, se pudo comprobar que las mitocondrias presentan una doble membrana que envuelve la matriz mitocondrial. La primera y más externa delimita la extensión de la mitocondria, además de mantener el contacto con el citoplasma. La segunda membrana, por supuesto más interna, se caracteriza por presentar invaginaciones denominadas crestas, las que penetran en la matriz mitocondrial. Como son dos membranas limitadas, encierran una porción mitocondrial denominada espacio intermembranas o espacio intercrestal.

Se observa, en general, que los tejidos bioquímicamente más activos, presentan mitocondrias con un número mayor de invaginaciones. También se observa que la cantidad de mitocondrias en esos órganos, normalmente es mayor. A partir del momento que presentan un número más grande de crestas, se supone, fundamentalmente, que el aumento de superficie de contacto entre membrana y citoplasma es increíblemente mayor. *“Se ha calculado que el hígado y el corazón de rata contienen una superficie total de membrana interna mitocondrial de alrededor de 12 y 20 m², respectivamente”* (ALVAREZ y cols., 2000).

“En la membrana mitocondrial interna, se localiza la cadena respiratoria que se caracteriza por la cohesión física con la cual sus componentes se mantienen unidos entre sí e integrados a la membrana. El componente hidrofóbico hace que la membrana interna sea impermeable a la mayoría de las moléculas polares, como protones y aniones hidroxilo. La denominación de cadena respiratoria es descriptiva, ya que el proceso catalizado está constituido por una secuencia acoplada de reacciones que dan como resultado la respiración o consumo de oxígeno. Este sistema multienzimático es conocido también como cadena de transporte de electrones, una denominación que pone énfasis en que las reducciones y oxidaciones son fenómenos caracterizados por la ganancia o pérdida de electrones. La superficie interior de la membrana interna se halla recubierta por unas partículas esféricas de alrededor de 9 nm de diámetro, unidas por un pedúnculo a la membrana. Estas partículas, denominadas partículas elementales o esferas

de la membrana interna, están constituidas por la enzima F1-ATPasa responsable de la síntesis de ATP, proceso acoplado a la cadena respiratoria. El proceso simultáneo de oxidación y fosforilación de ADP es denominado fosforilación oxidativa” (ALVAREZ y cols., 2000).

2.6. Distribución de enzimas en las membranas mitocondriales

Experimentalmente podemos separar las dos membranas mitocondriales por centrifugación. Tal proceso tiene la finalidad de aislamiento de las mitocondrias. Además de la centrifugación, las mitocondrias son expuestas a la acción de un medio hipotónico, que hace con que haya una expansión del volumen mitocondrial, proceso ese denominado swelling. Con eso, observamos que la membrana externa sufre una ruptura irreversible, al contrario de la membrana interna, que cuando expuesta a un medio hipertónico, enriquecido con ATP, presenta una contracción de volumen, retornado a su estado inicial. Su separación y análisis revelan que podemos identificar una gran cantidad de enzimas distintas, como la aminooxidasa, las tioquinasas de los ácidos grasos, y una NADH-chito romo c-reductazo. Por su vez, la membrana interna contiene los componentes de la cadena respiratoria y las proteínas necesarias para la síntesis de ATP, convirtiéndose en la parte más fascinante, la más importante y la más estudiada de las dos.

El fraccionamiento de la membrana mitocondrial interna puede ser hecho a través del uso de colato y desoxicolato, de forma que observamos con distinción los varios complejos característicos. Con eso también aislamos las proteínas constituyentes de la cadena respiratoria. *“Otras proteínas, como la 3-hidroxi-butirato-dehidrogenasa y las permeasas transportadoras de aniones y nucleótidos también se hallan integradas a la membrana mitocondrial interna. El espacio intermembrana contiene, entre otras enzimas, la adenilato-quinasa. La matriz mitocondrial contiene las enzimas solubles del ciclo de los ácidos tricarbóxicos, la glutamato dehidrogenasa y las enzimas de oxidación de ácidos grasos. La Tabla 1 muestra la distribución de enzimas en la mitocondria”* (ALVAREZ y cols., 2000).

Tabla 3 – Enzimas mitocondriales y su distribución

Ubicación	Enzima
Membrana externa	NADH-chito romo c reductazo, Acil-CoA sintetasa, Nucleósido-difosfato-quinasa, Monoamino-oxidasa, Quinureina-oxidasa, Fosfolipasa A, Colina-fosfotransferasa
Espacio intermembrana	Adenilato-quinasa, Sulfito-oxidasa
Membrana interna	NADH – dehidrogenasa, Succinato-dehidrogenasa, Hierro-sulfo proteínas, Citocromos b,c,cl y aa3, F1-ATPasa , 3-hydroxibutirato-dehidrogenasa, Carnitina-acil-transferasa, ADP-ATP-translocasa, Pi-OH translocasa, Dicarboxilato-translocasa, Tricarboxilato-translocasa, Translocasas específicas
Espacio intermembrana	Adenilato-quinasa Sulfito-oxidasa

Fuente: Álvarez, 2000.

Teniendo en cuenta que la mitocondria presenta un ADN propio (constituido por cerca de 16500 pares de bases, pero 10^{-5} veces menos que el ADN nuclear), se observa que la mayoría de las proteínas mitocondriales son codificadas por el núcleo. El ADN mitocondrial, además de contribuir con cerca de 1% del ADN, encierra la información necesaria para la síntesis de 13 subunidades proteicas del complejo de fosforilación oxidativa, al mismo tiempo que hace la codificación para 2 ARN ribosomales 12S y 16S, y 22 ARN de transferencia.

“Es importante destacar que en la mitocondria se encuentra el 10-15% del glutatión total celular. Dicha molécula es un tiol de bajo peso molecular (tripéptido), que ayuda a mantener un medio reductor en la organela” (ALVAREZ y cols., 2000).

2.7. Metabolismo Oxidativo Mitocondrial

La mitocondria desempeña una función muy importante en el metabolismo aeróbico. Su trabajo inicial es de promover la decarboxilación oxidativa de compuestos, de forma que haya una producción de acetil-CoA. Entre los substratos utilizados se encuentra el piruvato, que es el producto final de la glicólisis. La reacción es mediada

por el complejo enzimático piruvato dehidrogenasa. Enseguida, el acetyl-CoA formado es oxidado en dos caminos metabólicos distintos. Puede seguir el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, siendo transformado en dióxido de carbono, donde participa el NAD⁺ que es reducido a NADH o pasar a través de una gama de reducciones y oxidaciones de forma que al final se observe una reoxidación del NADH a NAD⁺ y la reducción del oxígeno a agua. Este segundo proceso, catalizado por la cadena respiratoria, es determinante, ya que la energía de oxidación de sustratos que es utilizada para la síntesis de ATP se origina aquí.

El ATP es tan sólo un nucleótido derivado de la unión de una ribosa, una adenina y una unidad trifosfato. Su forma activa generalmente viene agregada a un Mg⁺² o Mn⁺². Su base energética depende de su unidad trifosfato que sitia dos enlaces anhídrido fosfórico. El desprendimiento de energía depende exclusivamente de *su hidrolización hasta monofosfato de adenosina y pirofosfato*” (STRYER, 1988). El ATP se convierte, por tanto, en el principal donante directo de energía libre.

Así concluimos que el intermediario más importante del metabolismo oxidativo en las mitocondrias es la acetyl-CoA, que por su vez puede ser originado de tres fuentes distintas, de azúcares, ácidos grasos y aminoácidos. A través de la beta-oxidación, los ácidos grasos son destituidos a acetyl-CoA. En ese proceso, las enzimas implicadas provienen de la matriz mitocondrial. La degradación de aminoácidos ocurre en su mayoría en el citosol. Independientemente de eso, la mitocondria desempeña una función importante en tal proceso. *“Hay transaminasas mitocondriales que convierten ciertos aminoácidos a los correspondientes cuerpos cetónicos que pueden entrar al ciclo de los ácidos tricarboxílicos”*. (ALVAREZ y cols., 2000).

2.8. La cadena respiratoria

2.8.1 Componentes:

La presencia de innúmeros transportadores de electrones en la cadena respiratoria es una característica importante de la cadena respiratoria. Esos mismos transportadores pueden constituirse en moléculas orgánicas comparativamente *“simples, como la ubiquinona; nucleótidos como el NADH; o estructuras proteicas, como las*

flavoproteínas, las hierro-sulfoproteínas o los citocromos” (ALVAREZ y cols., 2000).

El sistema de transferencia se organiza de forma que los componentes de la cadena respiratoria puedan ser ordenados para desempeñar un trabajo altamente eficiente y suficientemente rápido, ya que su especificidad evita reacciones paralelas.

Observamos que hay diversas vías de entrada de sustratos oriundas de las distintas dehidrogenasas. La mayoría de los electrones que vienen de los procesos oxidativos celulares, tienen la ubiquinona como objetivo principal. De esa forma, los electrones son transferidos a la ubiquinona mediante la acción de flavoproteínas dehidrogenasas: NADH dehidrogenasa, succinato dehidrogenasa, glicerol-3-fosfato dehidrogenasa, acil (ácido graso)-CoA dehidrogenasa, colina dehidrogenasa. En contrapartida, observamos que el oxígeno recibe electrones de un único donante: el chito como aa3 o chito como oxidasa. “*Entre la ubiquinona y la chito como oxidasa, hay varios transportadores intermedios: los citocromos bk, bT, c1 y c; y algunas hierro-sulfo proteínas*” (ALVAREZ y cols., 2000). Como la chito como oxidasa desempeña el papel de donante de electrones al oxígeno que no puede ser igualado por ningún otro mediador, se puede afirmar que se trata de un componente motriz esencial para la respiración celular. Su capacidad de transferencia tetravalente de electrones al oxígeno para formar agua es impresionante.

Es posible distinguir cinco complejos funcionales distintos en la mitocondria. El fraccionamiento de la membrana interna puede ser hecho utilizando sales biliares, que promueven segmentación de la membrana. Los cinco complejos son denominados: el complejo I (NADH-ubiquinona reductazo), el complejo II (succinato-ubiquinona reductazo), el complejo III (ubiquinol-chito como c reductazo), el complejo IV (chito como oxidasa) y el V (complejo F1-ATPasa).

2.8.2 Inhibidores:

Existen tres grupos principales de inhibidores del transporte de electrones. Son divididos en grupos distintos por una razón muy sencilla. Se agrupan de acuerdo con el sitio de acción donde actúan. Un primer grupo de inhibidores interviene sobre la NADH-dehidrogenasa, promoviendo el bloqueo de la transferencia de electrones entre la flavina y la ubiquinona. Como representantes de ese grupo se pueden mencionar la rotenona y la piericidina. Su acción está vinculada a una ligación estequiométrica con la NADH-dehidrogenasa. El amital, los esteroides, los detergentes, y algunos anestésicos

volátiles como el halotano son inhibidores de localización semejante. Son denominados en general de inhibidores del grupo I, debido a su acción específica sobre el primer sitio de fosforilación. Un segundo grupo presenta acción bloqueadora sobre la transferencia de electrones entre el chito romo b y el chito romo c1. Un ejemplo conocido de este grupo es la antimicina, de forma que su acción depende de una ligación estequiométrica *“con un componente que está en relación equimolecular con los citocromos bT y c1 Inhibidores similares son la hidroxiquinolina-N-óxido y el BAL. Se los denomina inhibidores de sitio II”* (ALVAREZ y cols., 1994). Los inhibidores de sitio III sobre el hemo a₃ de la chito romo oxidasa, de forma que su interacción con el oxígeno se torna inviable. Otras especies reactivas como el cianuro, monóxido de carbono y azida son impedidas de unirse a la enzima por el mismo mecanismo.

2.8.3 Fosforilación oxidativa

La obtención de energía libre es conseguida mediante la combustión de moléculas como los ácidos grasos y glucosa. La transferencia de electrones, mediados por transportadores especiales, como los nucleótidos de piridina o flavinas, en sus formas reducidas, transfieren esos mismos electrones al último receptor de la cadena respiratoria: el oxígeno.

La síntesis de ATP depende básicamente de este transporte electrónico, además de la presencia de ADP y Pi. El proceso recibe entonces el nombre de fosforilación oxidativa. Se trata de un proceso que envuelve mecanismos oxidativos, responsables de la liberación de la energía necesaria para tal síntesis. Es un conjunto de reacciones químicas tales como el transporte de electrones y la síntesis de ATP (mencionados arriba), dependiente de la fuerza promotriz, que se caracteriza por el desencadenamiento de un potencial electroquímico de protones transmembrana y que ocurre, obviamente, en la membrana mitocondrial interna. Las reacciones químicas y la fuerza promotriz están íntimamente ligadas y son interdependientes. Si se tienen en cuenta los sitios de entrada de los electrones en la cadena respiratoria, cuando se utilizan NADH, succinato, ascorbato-tetrametil-p-fenilendiamina, se pueden localizar los sitios de la cadena respiratoria donde se produce energía para la síntesis de ATP. Estos sitios son denominados de: sitios de conservación de la energía o sitios de fosforilación. Se

admite que están ubicados en la cadena respiratoria en la vecindad de la NADH-dehidrogenasa (primer sitio), en el sector chito romo b-chito romo c1 (segundo sitio) y en el sector chito romo oxidasa-oxígeno (tercer sitio). “*La ubicación de los sitios de conservación de la energía es una consecuencia de las propiedades termodinámicas de la cadena respiratoria o, en otros términos, de los potenciales redox¹⁰ de los transportadores de electrones*” (ALVAREZ y cols., 2000). Así afirmamos que un agente fuertemente reductor (NADH) presenta un potencial redox negativo alto, de forma que un agente fuertemente oxidante (oxígeno) presenta un potencial redox positivo (STRYER, 1988).

Por tanto afirmamos que le NADH y el FADH₂, formados en la glicólisis, en la oxidación de ácidos grasos y en el ciclo de Krebs presentan un eximio potencial de transferencia de electrones. La fosforilación oxidativa es responsable por 32 de las 36 moléculas de ATP que son formados de la oxidación de la glucosa en CO₂ y agua.

De forma sencilla podemos describir el camino de los electrones hasta el oxígeno:

“La cadena mitocondrial de transporte de electrones presenta un conjunto de complejos distintos e interdependientes para la producción energética mediada por la respiración celular (...):

El Complejo I es formado por la enzima NADH: ubiquinona dehidrogenasa (NADH-DH). El NADH es un nucleótido con electrones de alta energía proveniente del ciclo del ácido cítrico. El complejo I transfiere dichos electrones del NADH -por acción de la NADH dehidrogenasa - a la ubiquinona o coenzima Q (CoQ) y luego al succinato, que es el siguiente paso en la cadena de transporte. Al pasar de un transportador al siguiente, los electrones liberan energía que es utilizada por el complejo I para bombear protones (H⁺) de la matriz al espacio intermembrana. Esto genera un gradiente transmembrana que termina activando a la enzima ATPsintetasa o ATPasa.

Cada complejo en la cadena respiratoria tiene mayor afinidad por electrones que su predecesor, a su vez, éstos van perdiendo energía a medida que recorren la cadena.

El Complejo II es formado por la enzima Succinato - ubiquinona reductazo Este complejo enzimático transfiere electrones del succinato a la CoQ. En esta etapa no se produce translocación de protones a través de la membrana y por lo tanto el Complejo II es un simple

¹⁰ El concepto electroquímico de potencial redox. Puede ser negativo o positivo. El redox negativo puede ser definido como la afinidad más baja de ciertas sustancias por electrones los que la del H₂. En contrapartida, el redox positivo sería la afinidad más alta de ciertas sustancias por electrones los que la del H₂ (STRYER, 1988).

transportador entre el Complejo I y el III.

El Complejo III es formado por la enzima citocromo *bc₁*. Transporta electrones de la CoQ al citocromo *c*. En esta etapa hay translocación de protones.

El Complejo IV es formado por la enzima citocromo oxidasa (...) que utiliza al citocromo *c* (Cit *c*) como sustrato. La enzima toma 4 electrones del citocromo *c* y los transfiere a dos moléculas de oxígeno formando agua. Esta es la única circunstancia en que el oxígeno (que por su estructura atómica solo puede tomar uno o a lo sumo dos electrones a la vez), adquiere en forma simultánea 4 electrones. En esta etapa hay translocación de protones.

El Complejo V es formado por la enzima ATPasa que funciona en forma reversible. La enzima aprovecha la energía generada por la translocación de protones en los complejos I, III y IV para sintetizar ATP que es el objetivo final de todo este mecanismo. Actuando en forma reversible, la ATPasa puede a su vez, hidrolizar el ATP para bombear, contra gradiente, electrones desde el espacio intermembrana hacia la membrana, o sea el mecanismo inverso que se verificaba en los complejos I, III, y IV. (MARASCO y cols., 1999)

Además de la presencia de NADH y FADH₂ como transportadores de electrones, la cadena respiratoria presenta otro componente cargador, que entre otras funciones promueve y facilita la dislocación de protones dentro de la membrana: la coenzima Q o ubiquinona (CoQ10). En la cadena respiratoria “*actúa transportando electrones entre el NADH y la succinato dehidrogenasa y el sistema de citocromos*” (MARASCO y cols., 1999).

Todo el proceso de fosforilación oxidativa depende del llamado control respiratorio. La presencia de ADP y fosfato inorgánico (Pi) es condición irrevocable para que ocurra la oxidación de sustratos en las mitocondrias. Como la presencia de fosfato inorgánico, en condiciones fisiológicas, es abundante en la membrana mitocondrial, pudimos afirmar que, la concentración de ADP es el factor que determina la velocidad de los procesos bioquímicos y bioelectrolíticos. Por tanto, se afirma que la ausencia de ADP limita la actividad respiratoria, siendo en ese caso débil. Este estado, donde existe sustrato suficiente para el incremento de la respiración mitocondrial, en la ausencia de ADP, lo determina una velocidad respiratoria lenta es llamado de estado controlado o estado 4.

Existen maneras de medirse la eficiencia de la respiración mitocondrial, siendo la polarografía una de las más utilizadas. En experimentos controlados, los sistemas mitocondriales tuvieron su velocidad de respiración aumentadas varias veces,

después de acrecentarse cantidades expresivas de ADP¹¹. Sin embargo, posteriormente a la consumición de todo el ADP, se observa que la velocidad con que se procesa la actividad respiratoria vuelve al estado inicial (retoma el estado 4). Esta relación entre el estado 4 y 3 es denominada control respiratorio.

Las mitocondrias, normalmente, presentan la relación del consumo de ADP, utilización de oxígeno para oxidar el sustrato (índice de P:O) y la formación de ATP, equilibrada. Por tanto, esos tres factores agregados son responsables para que se pueda expresar el grado de articulación entre los procesos de oxidación y de fosforilación, de forma que cuando se observan alteraciones en el control respiratorio o en el índice P:O, podemos afirmar que hay mitocondrias dañadas o desacopladas. A seguir podemos ver algunos de los estados metabólicos mitocondriales.

Tabla 4 - Estados metabólicos disponibilidad mitocondriales (Según Britton Chance)

Estado metabólico	Presencia de O ₂	Nivel de ADP	Nivel de sustrato	Velocidad respiratoria	Factor determinante de la velocidad respiratoria
1	Sí	bajo	bajo	lenta	ADP
2	Sí	alto	muy bajo	lenta	sustrato
3	Sí	alto	alto	Rápida	cadena respiratoria
4	Sí	bajo	alto	Lenta	ADP
5	No ¹²	alta	alta	Nula	oxígeno

Fuente: Marasco, 1999.

2.8.4 Coenzima Q o ubiquinona

Los niveles tisulares de coenzima Q (CoQ₁₀) dependen de su biosíntesis endógena, además de la dieta específica de cada individuo. Prueba de eso es observada por el hecho de que pacientes dependientes totalmente de nutrición parenteral sufren

¹¹ La adición de ADP determina un consumo de oxígeno rápido y de forma que el estado 4, pasa a sufrir un cambio, que es denominado estado activo o estado 3.

¹² En estado de anaerobiosis

una pérdida drástica de sus niveles plasmáticos de coenzima Q. A ella le es dada una gran importancia, sobretodo a su cantidad en los músculos estriados y en el músculo estriado cardiaco, de forma que pacientes acometidos por enfermedades cardiacas presentan niveles más bajos de CoQ₁₀. El establecimiento de los niveles normales puede ser hecho al se administrar CoQ₁₀ a los pacientes que presentan la ya mencionada deficiencia, de forma que esas concentración sanguínea puede ser verificada a través de análisis de sangre y plasma (LITTARRU y cols., 1990).

La velocidad y efectividad del trabajo mitocondrial, que determina la funcionalidad de la cadena respiratoria o del transporte electrolítico dependen de factores muy importantes. Entre ellos está la concentración tisular de CoQ₁₀. Por su vez, la cantidad tisular de coenzima Q es determinada por varios factores. La deficiencia de vitamina A, tirotoxicosis y la exposición al frío contribuyen para el aumento de los niveles tisulares. En contrapartida, podemos afirmar que la exposición prolongada al hambre y una dieta pobre en proteínas hacen con que los niveles tisulares disminuyan (HUERTAS y cols., 1991).

Otros factores, como las condiciones psicológicas y patológicas, como en el hipertiroidismo, además del aumento de los daños oxidativos a las membranas mitocondriales con consecuente destrucción de sus lípidos membranares, como los observados en atletas en el periodo de entrenamiento intensivo también promueven la disminución tisular de CoQ₁₀ (LITTARRU y cols., 1990).

Existen evidencias de que la CoQ y la CoQ₁₀, en los seres humanos, presenta la función de tapar algunos agujeros oxidativos, convirtiéndose así en un importante antioxidante endógeno, motivo ese de su presencia en las paredes celulares. La protección celular previene la liberación de compuestos ácidos provenientes de la fosforilación de lípidos, además de suprimir la peroxidación de los mismos. Presenta también funciones bioenergéticas, desempeñando un papel importante en la cadena respiratoria (HUERTAS y cols., 1991). En la membrana mitocondrial promueve la transferencia del ion negativo entre el complejo flavoproteína deshidrogenase y citocromo bc₁ (LENAZ, 1998).

Así, el incremento en personas que presentan niveles más bajos es importante. Pacientes con hipertiroidismo, atletas en el periodo de entrenamiento y pacientes que sufrieron algún trasplante de órganos son “candidatos” a ese tratamiento. La elevación de los niveles cardiacos y musculares en individuos entrenados demostrara una relación positiva entre su contenido y el porcentual oxidativo de las fibras, y entre

su contenido y la capacidad de realización del ejercicio. Pero, cuando se procesaba la normalización de los niveles de coenzima Q por la acción de la citrato sintase, los individuos entrenados que presentaban una capacidad respiratoria más grande también tenían los niveles más bajos de CoQ₁₀ (LITTARRU y cols.,1990).

Según Huertas, no se observa el aumento de las concentraciones de CoQ₁₀ y CoQ₉ al someter individuos a dieta con 8% de óleo de oliva virgen. Pero al se administrar antraciclina¹³ y inactivadores de la cadena respiratoria, ocurre una estimulación de la peroxidación lipídica en microsomas, con aumento en la producción de CoQ₉, demostrando un claro intento del cuerpo en compensar el daño producido. Una única molécula de ubiquinona reducida puede proteger cerca de 1300 moléculas de ácidos grasos poliinsaturados.

El la cadena mitocondrial, la coenzima Q presenta un papel importante. Se trata del substrato para la actuación de los complejos I y III de la cadena respiratoria. *“El Complejo I es formado por la enzima NADH: ubiquinona dehidrogenasa (NADH-DH). El NADH es un nucleótido con electrones de alta energía proveniente del ciclo del ácido cítrico. El complejo I transfiere dichos electrones del NADH -por acción de la NADH dehidrogenasa - a la ubiquinona o coenzima Q (CoQ) y luego al succinato, que es el siguiente paso en la cadena de transporte. Al pasar de un transportador al siguiente, los electrones liberan energía que es utilizada por el complejo I para bombear protones (H⁺) de la matriz al espacio intermembrana. Esto genera un gradiente transmembrana que termina activando a la enzima ATPsintetasa o ATPasa. (...) El Complejo III es formado por la enzima chito romo bc1. Transporta electrones de la CoQ al chito romo c. En esta etapa hay translocación de protones”.* .

2.8.5 citocromo Oxidasa

La influencia de diferentes tipos de dietas y la peroxidación lipídica envolviendo la acción de la chito romo oxidasa con visible alteración de las concentraciones endógenas de chito romo a+a₃ en las mitocondrias fue considerablemente investigada.

¹³ Antibiótico

Es inherente el hecho de que dietas altamente grasientas son responsables por una alta degradación fosfolipídica en la membrana mitocondrial. Los efectos peroxidativos pueden, algunas veces, producir una aparente enlace entre la acción de la chito romo oxidasa y el incremento del contenido de chito romo $a+a_3$. (MATAIX y cols., 1991).

Algunas enzimas de la pared de las membranas utilizan substratos hidrófobos, que comparten el mismo sitio activo con partes específicas de lípidos homólogos. Eso explica el aumento de la actividad del chito romo en dietas altamente constituidas de lípidos; en especial, lípidos poliinsaturados (FATO y cols., 1988).

La chito romo oxidasa es una enzima terminal de la cadena respiratoria, vital para la transducción de energía y para el consumo del oxígeno. Es compuesto por 13 subunidades, siendo tres de ellos transcritos y traducidos en la propia mitocondria; y los demás transcritos en el núcleo celular, traducidos en el citoplasma y transportados a la célula. La chito romo c oxidasa es altamente dependiente de la cardiolipina para obtener su máxima actividad, de forma que la alteración dietética, en detrimento de la ingestión de lípidos, puede alterar su acción en la cadena respiratoria. (MATAIX y cols., 1991).

La chito romo oxidasa es constituyente del complejo IV en la cadena respiratoria y *“utiliza al chito romo c (Cit c) como sustrato. La enzima toma 4 electrones del chito romo c y los transfiere a dos moléculas de oxígeno formando agua. Esta es la única circunstancia en que el oxígeno (que por su estructura atómica solo puede tomar uno o a lo sumo dos electrones a la vez), adquiere en forma simultánea 4 electrones. En esta etapa hay translocación de protones”*.

2.8.6 Desacoplantes e inhibidores:

La inhibición de la fosforilación oxidativa puede ocurrir cuando se hace presente representantes de dos clases de sustancias denominadas desacoplantes y los inhibidores de la transferencia de energía. Entre los desacoplantes, podemos mencionar los fenoles sustituidos (pentaclorofenol y dinitrofenol), hormonas tiroideas, fenilhidrazonas de cianuro de carbonilo, dicumarol, ácidos grasos de cadena larga y algunos antibióticos (como valinomina y gramicidina). Presentan la acción característica de desperdiciar el potencial electroquímico de protones; de forma que la

energía producida en el transporte electrónico se pierde en forma de calor. Existen aun inhibidores de la transferencia de energía. Hacen parte de ese grupo la rutamicina, oligomicina y dicitclohexilcabodimida, que actúan afectando paralelamente la respiración y a la fosforilación. Entre tanto, en sus acciones no se incluyen perjudicar el transporte de electrones en mitocondrias desacopladas. Por eso, el desacoplamiento de la energía liberada por el transporte de electrones en las mitocondrias mediada por los desacoplantes estimula la respiración, mismo que la energía producida se pierda. Además de esta diferencia, presentan propiedades que también los diferencian de los inhibidores directos del transporte de electrones (como cianuro y antimicina).

2.8.7 Concepción quimiosmótica del mecanismo de acoplamiento

La conservación de energía es un proceso que viabiliza su utilización para la formación de ATP. Se trata de uno de los eventos primordiales de la fosforilación oxidativa. Esa energía también puede ser utilizada en otras funciones mitocondriales dependientes de energía. Peter Mitchell propuso una teoría quimiosmótica, bastante aceptada para explicar el mecanismo de acoplamiento de estos procesos. Entre tanto, su teoría debe respetar tres fundamentos:

a) el primero dice que la membrana mitocondrial interna presenta la característica de impermeabilidad delante de la presencia de protones e hidroxilos.

b) En la cadena respiratoria observamos el cambio electrolítico de la mitocondria con el medio extramitocondrial citosólico, de forma que dos protones son translocados por dos electrones. Este proceso es articulado al transporte de energía por medio de los sitios de conservación de energía.

c) El transporte de protones para la matriz mitocondrial mediante la acción de la ATPasa (ATPsintetasa) se relaciona directamente con la síntesis de ATP. Se trata de una enzima que transporta vectorial y, reversiblemente, protones con una estequiometría característica: dos protones por Pi incorporado (o liberado) del ATP.

“Los electrones son transportados a través de la cadena respiratoria y la energía liberada en la reacción redox es utilizada para excluir protones desde la membrana interna hacia el espacio intermembranas. Este proceso crea un potencial promotriz a través de la membrana interna, con la subsiguiente reentrada de protones hacia el

interior forzando a la enzima ATP sintetasa (unida a membrana), que cataliza la formación de ATP, a completar el proceso de fosforilación oxidativa (...). Esta teoría implica la importancia de procesos direccionales o vectoriales versus no direccionales en biología, lo cual es lógico ya que las enzimas involucradas en la respiración y fosforilación oxidativa se hallan unidas a una membrana” (ALVAREZ y cols., 2000).

2.8.8 Producción de peróxido de hidrógeno y anión superóxido en mitocondrias

2.8.8.1 Primeras evidencias

Históricamente, en 1966 y 1967, Jensen y Hinckle y col., determinaron que la producción de H_2O_2 por la cadena respiratoria mitocondrial era una evidencia irrevocable. En 1971, Loschen y col. determinaron experimentalmente, en el corazón de una paloma, la formación de H_2O_2 mitocondrial, determinando su relación con el estado metabólico, al mismo tiempo que Boveris y col, en 1972, descifraron y especificaron las propiedades generales de la producción mitocondrial de H_2O_2 en mitocondrias de hígado de rata. Diversos investigadores empezaron a realizar experimentos con diversas clases distintas de animales, para determinar definitivamente la actividad mitocondrial. Fueron investigados mamíferos, aves, invertebrados, organismos unicelulares eucariotas, y plantas; lo que permitió que el establecimiento de la producción de H_2O_2 sea considerada como una propiedad mitocondrial. Entre tanto, *“la producción de O_2^- por membranas mitocondriales fue informada por primera vez por Loschen y col., y luego Boveris y Cadenas mostraron que el O_2^- es el precursor estequiométrico del H_2O_2 mitocondrial” (ALVAREZ y cols., 2000).*

2.8.8.2 - Producción de peróxido de hidrógeno y anión superóxido

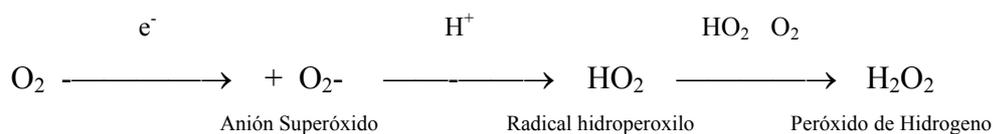
La mitocondria es un de los mayores productores de radicales libres al mismo tiempo que son constituidas de compuestos altamente vulnerables a los mismos. Los científicos determinan que varias enfermedades degenerativas y productoras de

radicales libres son oriundas de mutaciones en las mitocondrias.

La utilización del oxígeno en los procesos de respiración celular está en el orden de 96 a 99%. “En distintos niveles de la cadena (...) el oxígeno toma un electrón por molécula (...) reduciéndose a anión superóxido (O_2^-), o dos electrones convirtiéndose en peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La cadena respiratoria, constituye por lo tanto la mayor fuente de estas especies reactivas de oxígeno (...)” (ALVAREZ y cols., 2000). Del 1 al 4%, no utilizado, por tanto, por la cito como oxidasa, se destina a la producción de H_2O_2 y O_2^- .

Cuando ocurre el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno, producción esa que puede ser acrecida por la presencia de anoxia, que promueve la reacción catalítica con metales, y reperfusión sanguínea; las mitocondrias se transforman en el mayor objetivo de destrucción. Ocurre una cadena de eventos que envuelve la peroxidación de lípidos, oxidación proteica y daño al DNA con debilidad en la actividad enzimática y finalización de la actividad mitocondrial (LENAZ y cols., 1999).

Sencillamente, podemos afirmar, que durante la oxidación del grupo ferrohemo (Fe^{+2}) de la hemoglobina a ferrihemo (Fe^{+3}) se observa la formación del radical hidroperóxido por protonación del anión superóxido (HO_2), que enseguida reacciona con otro anión superóxido formando el peróxido de hidrógeno (H_2O_2).



El hierro, por tanto, puede ser considerado un radical, ya que presenta electrones desemparejados. En otras palabras, “la oxidación de Fe^{2+} conduce, a través de la pérdida de un electrón que es recibido por el oxígeno, a la formación de O_2^- . La generación de O_2^- da origen a H_2O_2 , que puede reaccionar con Fe^{2+} y producir $\cdot OH$ (reacciones 1 a 3), de esta forma el hierro resulta un catalizador adecuado de la producción de intermediarios de la reducción parcial del oxígeno de alta reactividad”. (GALLEANO y cols., 2000)





El estado metabólico mitocondrial ejerce y determina la funcionalidad mitocondrial. La producción de H_2O_2 por mitocondrias aisladas se relaciona con el estado momentáneo de la misma. La producción se ve aumentada cuando la mitocondria se presenta en el estado 4, ya que la ausencia de ADP hace con que la respiración celular se procese a un nivel muy bajo. De esa forma, observamos una excesiva reducción de los componentes de la cadena. En contrapartida, en el estado 3, donde la velocidad de consumo de oxígeno es alta, los componentes de la cadena respiratoria se encuentran oxidados, de forma que la generación de H_2O_2 es baja o inexistente. La presencia de antimicina A puede ser un problema, ya que casi todo el oxígeno presente es conducido a la producción de H_2O_2 . Al revés, la utilización de sustratos que penetran en la cadena respiratoria por medio de la actuación del NADH, hace que la Rotenona inhiba la producción de H_2O_2 . Entre tanto, la entrada de cualquier sustrato mitocondrial en la cadena respiratoria por el camino de NADH o ubiquinona, potencialmente tiene la capacidad de generar H_2O_2 .

Tabla 5 – Producción de anión superóxido por las partículas submitocondriales

Tejido	Sustrato	Inhibidor de la cadena	Producción de $\text{O}_2^{\cdot -}$ (nmol/min/mg de proteína)
Corazón bovino	Succinato	antimicina	1.7
Corazón de rata	Succinato	antimicina	1.3
Hepatoma de Morris	Succinato	antimicina	3.8
Macrófago (pulmón de rata)	Succinato	antimicina	0.7
Tumor de Ehrlich	Succinato	antimicina	0.9
Hígado de rata	Succinato	antimicina	2.8
Cerebro de rata	dihidroorotato	Antimicina	2.5
Corazón bovino	NADH	rotenona	0.9

Raíz de papa	NADH	rotenona	1.0
--------------	------	----------	-----

Fuente: Galleano, 2000.

Tabla 6 - Producción de peróxido de hidrógeno en mitocondria aislada

Tejido	Sustrato	Producción de H ₂ O ₂ (nmol/min/mg de proteína)		
		Estado 4	Estado 3	Estado 3 + Antimicina
Hígado de rata	succinato	0.5	0.1	0.2
	Malato-glutamato	0.4	0.08	0.2
Corazón de rata	succinato	0.6	0	3.7
Riñón de rata	Succinato	0.4	0.1	1.6
Macrófago (pulmón de rata)	succinate	0.6	-	1.4
	malato-glutamato	0.4	-	1.8
Corazón de paloma	succinato	0.8	0	16
	Malato-glutamato	0.8	0	15
Pulmón de Paloma	succinato	0.33	0	0.25
Crithidia fasciculata	succinato	4.9	4.1	8.5
	alfa-ketoglutarato	8.6	9.6	13.6
Saccharomyces cerevisiae	succinato	1.5	1.3	2.2
	etanol	1.4	1.1	1.5
Tripanosoma cruzi	NADH	2.3	2.3	2.3
Raíz de papa	succinato	0.7	0.34	0.81
	NADH	1.8	1.8	1.75

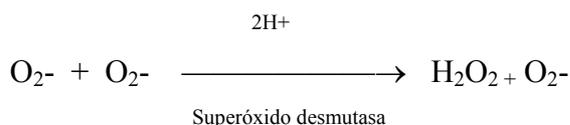
Fuente: Galleano, 2000.

El estudio de la cadena respiratoria permitió la localización de los sitios principales de producción de O₂⁻, que es considerado como precursor estequiométrico y principal intermediario del H₂O₂ mitocondrial; de NADH-ubiquinona reductazo (complejo I) y de la ubiquinol-chito como reductazo (complejo III), que comparten la ubiquinona como componente común. Los tres sitios son importantes productores de O₂⁻ y H₂O₂. La succinato dehidrogenasa (complejo II) no es considerada como una gran productora de H₂O₂. En contrapartida tenemos una sustancia denominada ubisemiquinona que es considerada como la principal culpable de la formación de O₂⁻ y

H₂O₂ en mitocondrias. Una curiosidad es que existen otras especies reactivas¹⁴ que pueden ser producidas, pero menos importantes.

El daño oxidativo mediado por especies como O₂⁻ y H₂O₂ es excesivamente grande. Promueve “*la oxidación de lípidos esenciales, a partir de la reacción en cadena de lipoperoxidación, pueden verse afectados los componentes de la cadena respiratoria y el DNA contenido en la mitocondria. De tal manera que la localización de las enzimas antioxidantes con relación a la mitocondria es importante*” (ALVAREZ y cols., 2000).

Entre las principales enzimas antioxidantes esta la superóxido dismutasa. En su contenido puede estar presente el cobre y zinc (Cu y Zn), que presenta su centro activo en el citosol de la célula. Existe una segunda forma que presenta en su constitución el Manganeseo (Mn) localizado en la mitocondria. Actúa básicamente promoviendo la formación de peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular a partir de dos moléculas de O₂⁻.



En los peroxisomas podemos encontrar la catalasa. En el citosol celular y en la mitocondria encontramos la glutatión peroxidasa. Se trata de una enzima que contiene selenio de origen mayoritariamente mitocondrial. A principio, podemos concluir que las defensas contra los antioxidantes se hacen presentes tanto en las mitocondrias cuanto en el citosol celular. “*La concentración en estado estacionario de O₂⁻ es mantenida en 10⁻¹¹ M en el citosol y en 10⁻¹⁰ M en la matriz mitocondrial por las superóxido dismutasas, mientras que el H₂O₂ es regulado básicamente por la catalasa a concentraciones mayores de 10⁻⁷ a 10⁻⁶ M en toda la célula (las membranas son altamente permeables al H₂O₂) y 10⁻⁹ - 10⁻⁸ M en los peroxisomas*” (ALVAREZ y cols., 2000).

¹⁴ Además de la producción de O₂⁻ y H₂O₂, podemos observar, en pequeñísima escala la producción de otras especies de oxígeno reactivo como el radical hidroxilo y oxígeno singlete (¹O₂), son dependientes de la producción primaria de las especies mencionadas.

Las especies reactivas de oxígeno, también pueden ser formadas en otros tejidos del organismo. En los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA - polyunsaturated fatty acid), por ejemplo, observamos un fenómeno denominado lipoperoxidación, que será discutida en el próximo tópico.

2.8.9 El sistema genético mitocondrial

La disminución progresiva de la funcionalidad mitocondrial es una de las situaciones más frecuentes del envejecimiento, lo que nos hace pensar que la mitocondria sería o funcionaria como un reloj; el reloj biológico del envejecimiento (MATAIX y cols., 1998). La propagación del daño oxidativo, con el paso del tiempo, está vinculada a la acumulación edad-dependiente producido por las especies reactivas del oxígeno y las alteraciones en la función fisiológica de la mitocondria (QUILES y cols., 1999). De esa manera se torna admisible considerar la mitocondria como uno de los blancos más importantes del proceso de envejecimiento. Como evidencias podemos enumerar:

- Acumulación de grandes deleciones y mutaciones puntuales en el DNA mitocondrial (DNAm_t) y el descenso de su numero de copias en algunos tejidos
- Disminución de la actividad enzimática de la cadena de transporte de electrones con el aumento de la edad.
- Las dos evidencias anteriores probablemente delimitan el al aumento de formación de radicales libres.
- Descenso del potencial y cambios de la morfología de la membrana mitocondrial.

Estos aspectos arriba mencionados definen algunas de las diferencias funcionales de la mitocondria, que determinan la velocidad y la forma con que se procesa el envejecimiento mitocondrial, que por su vez determina la longevidad de los individuos afectados en mayor o menor grado por los eventos descritos. Como ejemplo podemos citar que algunos estudios determinarían que en algunas poblaciones se observa

la presencia de una “*variante hereditaria de una línea germinal de ADNmt (halogrupo J) que se asocia con el envejecimiento más adecuado y una mayor longevidad en la población italiana*” (BATTINO y cols., 1999). El descubrimiento de tres mutaciones asociadas a una línea germinal de ADNmt explica la presencia de una cantidad expresiva de personas centenarias en Japón (HUERTAS y cols., 1999).

La mitocondria puede, por lo tanto ser considerada como un elemento de control de la expresión génica nuclear, y no sólo un orgánulo que determina, modifica y ajusta su metabolismo de acuerdo con la necesidad energética celular, además de ser responsable directo por la formación de ERO. “*Así se ha descubierto que un número elevado de proteínas con papel regulador o de adaptación se hallan localizadas en la mitocondria o bien son translocadas a ella por su activación. Este es el caso de Nur77/TR3, p53, PKC α , JNK/SAPK, algunas caspasas y miembros citoplasmáticos de la familia del Bcl2 tales como Bid, Bax o Bim* (GONZÁLEZ y cols., 1999).

2.8.10 Daño oxidativo al ADN y oxidación del ADN mitocondrial

Algunas enfermedades humanas están directamente relacionadas con la presencia de los radicales libres. El daño de biomoléculas, entre ellas del ADN se observa cuando hay una generación garrafal, sean por fuentes endógenas como exógenas de dichas sustancias (CHANCE y cols., 1979). “*El daño oxidativo es una consecuencia del metabolismo respiratorio normal y es causado por radicales libres producidos a partir del oxígeno molecular (O_2). Durante la reducción del oxígeno, a través de una serie de pasos univalentes, se puede generar anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo ($\cdot OH$) y agua (H_2O)*” (VALDEZ y cols.; 1999).

La interacción entre la RL y el ADN se procesa a nivel del soporte azúcar-fosfato, de la misma forma que con las bases, causando la “*fragmentación del azúcar y la pérdida de una base con parte del residuo del azúcar que aún permanece unido y al corte de la cadena*” (VALDEZ y cols., 1999) o dañando las bases timina y adenina (IMLAY, 1988).

De todas formas aun es necesario profundizar los estudios sobre el tema, pues por más que se sepa que las especies reactivas del oxígeno producen daño al ADN,

no está claro del todo sobre cual de ellas produce tal daño en condiciones fisiológicas (ARUOMA, 1989). *“Ni el O_2 - ni el H_2O_2 , bajo condiciones fisiológicas, parecen causar roturas de cadenas del ADN o modificaciones de las bases. Se ha propuesto que la toxicidad in vivo del O_2 - y del H_2O_2 se produce por su conversión, dependiente de una reacción no enzimática catalizada por hierro, a una especie radical altamente reactiva, el radical OH”* (VALDEZ y cols.; 1999).

Las fuentes exógenas también desempeñan papel importante. La radiación ionizante, cuando en contacto con el medio celular, y consecuentemente los tejidos corporales pueden inducir a la formación de OH. El rayo de acción o daño producido es similar al provocado por los RL (ISABELLE y cols., 1995).

Se estima que hasta un 90% de los *“daños inducidos en el ADN por el H_2O_2 son bases alteradas; asimismo puede causar roturas de simple y doble cadena”* (VALDEZ y cols., 1999). Eso se procesa directamente como consecuencia del daño al ADN, que, de forma que se atribuye también al H_2O_2 algunos errores cromosómicos e intercambio de cromátides hermanas. (BERNSTEIN y cols., 1991).

El sistema de reparación corporal presenta células, en su caso enzimas, que son capaces de remover las bases dañadas oxidativamente de ADN (por ejemplo en el caso de las bases glicosiladas). Como ya mencionado, tales enzimas celulares como la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peroxidasa o la glutatión reductasa limitan tal daño oxidativo, sin embargo *“las membranas celulares no son aparentemente obstáculo para los agentes oxidantes, ya que la liberación de especies reactivas del oxígeno formadas en leucocitos pueden inducir roturas de cadenas del ADN de células vecinas”* (VALDEZ y cols., 1999).

Es importante resaltar que tales daños se producen a diario, lo que es fácilmente comprobado por la presencia en la orina, tanto de humanos como de ratas, de residuos tales como timina glicol, deoxitimidina glicol, hidroximetiluracilo y 8-hidroxideoxiguanosina, que son excretados como consecuencia de su remoción durante la reparación del ADN (FRAGA y cols., 1991).

Específicamente, en el caso de la mitocondrias, podemos mencionar que muchos *“estudios de patologías causadas por mutaciones del ADN_{mit} sugieren que una variedad de enfermedades degenerativas puede estar asociada con defectos en la fosforilación oxidativa. Se han identificado una serie de alteraciones del ADN_{mit} que incluyen mutaciones por sustitución de bases, inserciones, deleciones, mutaciones nucleares que predisponen a las células a las deleciones del ADN_{mit} y a alteraciones del*

número de copias del ADN_{mit}” (VALDEZ y cols., 1999). Esas observaciones permitieron el desarrollo de teorías para el envejecimiento y su relación con algunas enfermedades degenerativas relacionadas con la edad (WALLACE y cols., 1992). Como ejemplo podemos citar que la deficiencia de chito romo c oxidasa se ve incrementada progresivamente con el paso del tiempo, y consecuentemente de la edad en fibras musculares esqueléticas y cardíacas (MULLER-HOCKER, 1990), lo que proporciona el deterioramiento de las actividades específicas de los complejos I y IV de la cadena de transporte de electrones (YEN y cols., 1989). *“Una de las posibles causas de la menor eficiencia (relacionada con la edad) de la fosforilación oxidativa como también de la alta velocidad de mutación del ADN_{mit} sería debida al daño del ADN_{mit} por radicales libres del oxígeno”* (VALDEZ y cols., 1999).

Como ya mencionado con anterioridad, cerca de 4% del oxígeno consumido se convierte en EROS¹⁵. Por intermedio de enzima superóxido dismutasa, el O₂⁻ es convertido a H₂O₂, que en presencia de metales de transición genera ·OH (FRIDOVICH, 1975).

Estas especies reactivas del oxígeno generadas en la mitocondria, pueden dañar las membranas mitocondriales, proteínas y ADN. El ADN_{mit} parece ser un blanco común para el daño por radicales libres. Así, el daño oxidativo del ADN_{mit} es 16 veces superior al del ADN_n. Por otro lado, el papel de los oxidantes en la formación de deleciones a nivel del ADN_{mit} se basa en la observación de que la doxorubicina, un compuesto que estimula la producción de oxidantes mitocondriales, crea un marcado aumento de las deleciones mitocondriales en tejido cardíaco; este efecto es bloqueado por ubiquinona, un componente clave de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, cuya forma reducida (ubiquinol) exhibe propiedades antioxidantes (VALDEZ y cols., 1999).

¹⁵ EROS – especies reactivas del oxígeno.

Tabla 7. Enfermedades asociadas al ADNmit.

1) Enfermedades causadas por mutaciones puntuales en el ADNmit	
<i>MERRF</i>	Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease
<i>MELAS</i>	Mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke- like symptoms
<i>MMC</i>	Myopathy and cardiomyopathy
<i>NARP</i>	Neurogenic muscle weakness, ataxia, and Retinitis Pigmentosa
<i>LHON</i>	Leber's hereditary optic neurophathy
2) Enfermedades causadas por inserciones y deleciones en el ADNmit	
<i>KSS</i>	Kearns-Sayre syndrome
<i>CEOP</i>	Chronic external ophthalmoplegia plus
—	Pearson' marrow/pancreas syndrome
3) Otras enfermedades asociadas a defectos en la fosforilación oxidativa	
Diabetes Mellitus	
Enfermedad de Parkinson	
Enfermedad de Alzheimer	
Enfermedad de Huntington	

Fuente: VALDEZ, 1999.

2.9. La lipoperoxidación

El fenómeno de la lipoperoxidación ocurre debido a la conformación bioquímica de las moléculas grasas que *“poseen tres o más uniones carbono-carbono con doble ligadura, que les confiere una zona de enlace lábil que permite que una molécula activa como el OH les sustraiga un átomo de H”* (LLESUY,1999). El proceso en sí es dividido en tres etapas distintas.

La primera, la iniciación, en la que el hidrógeno es retirado de su ligación con el carbono por un radical libre (HO·), formando un radical lipídico o radical de ácido graso (R·). En realidad, el inicio de la lipoperoxidación es iniciada por el ataque de cualquier especie química capaz de retirar un átomo de hidrógeno de un lípido, más específicamente de un metileno.

En la fase de propagación, observamos que el radical lipídico se une al compuesto oxígeno resultando en la formación de un lipoperóxido (ROO·). *“Este*

peróxido puede retirar un nuevo hidrógeno de otro carbono molecular. De esta manera, persiste el proceso autocatalítico que convierte el carbono del ácido graso de los fosfolípidos de membrana en hidroperóxido". (LLESUY,1999).

Las reacciones que ocurren enseguida¹⁶ hacen que se forme un tetróxido, que consiste en la reacción entre dos ROOH. El rompimiento de los tetróxidos genera aldehídos de cadena corta y aún fragmentados (malondialdehído, etano, pentano). Esos compuestos aldehídicos son altamente reactivos, además de representar los componentes tóxicos del proceso de lipoperoxidación. Los alimentos que sufren descomposición presentan el olor, el color y el sabor característico de alimentos degenerados oriundo de esos compuestos. Una característica de esos compuestos es que en presencia de sales de cobre o de hierro, aumenta de forma sensible su descomposición en alcoxi o peroxiradicales. *"La determinación de los productos terminales de la peroxidación lipídica, entre ellos el malondialdehído, y la técnica de quimioluminiscencia constituyen métodos de amplio uso para evaluar el estrés oxidativo o el daño por radicales libres a las membranas celulares y las lipoproteínas"* (LLESUY,1999).

El malondialdehído es el segmento final de la oxidación lipídica. De hecho, podemos afirmar que existe un orden secuencial de producción de sustancias derivadas de ese proceso. Tenemos, en orden de producción, los dienoconjugados, los hidroperóxidos, además de otros productos, hasta que se produce, por fin, el malonaldehído.

La velocidad de oxidación es medida pela velocidad con que alguno de esos 3 parámetros se produce. Indirectamente observamos que la vitamina E, la coenzima Q y la glutatión peroxidasa son antagonistas a ese proceso, significa que indirectamente esos parámetros pueden ser evaluados.

La presencia de malonaldehído confirma que dietas con un alto contenido de lípidos inducen a la peroxidación y degradación fosfolipídica de mitocondrias y microsomas (HUERTAS y cols., 1991).

Así, afirmamos que la longevidad de las mitocondrias es menor debido la presencia de ácidos grasos poliinsaturados, de forma que cuanto mayor la instauración, más grande es el grado de peroxidación. (MATAIX y cols., 1991).

Otro factor importante en la lipoperoxidación es la participación del hierro

¹⁶ En esa etapa puede ocurrir una interrupción de las lipoperoxidación por la acción de antioxidantes.

en reacciones hierro dependientes:

Como especies responsables de la iniciación de las reacciones en cadena se han propuesto tanto al $\cdot\text{OH}$ como a hierro-oxo-especies, tales como el ión perferrilo ($\text{Fe}^{2+}\text{-O}_2$ $\text{Fe}^{3+}\text{-O}_2^-$), el ión ferrilo (FeO_2^+) o el complejo $\text{Fe}^{2+}\text{-O}_2\text{Fe}^{3+}$. En la etapa de propagación el hierro interviene incrementando la velocidad de oxidación de lípidos a través de la conversión de los hidroperóxidos lipídicos (ROOH) en radicales alcoxilos ($\text{RO}\cdot$) o peroxilos ($\text{ROO}\cdot$).



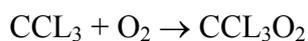
Las dos consecuencias fundamentales de la peroxidación de lípidos son: a) distorsión y/o ruptura de membrana, lo que altera la permeabilidad de la misma y produce cambios en la actividad de las enzimas dependientes de lípidos y b) la toxicidad de los peróxidos lipídicos y sus productos de ruptura. Se ha observado que la peroxidación precede o acompaña el daño celular en muchas patologías y el daño a los fosfolípidos de las membranas de las organelas sería el mecanismo unificador subyacente en muchas de las teorías propuestas a fin de explicar los efectos descritos en tejidos sometidos a sobrecarga de hierro. En el caso de las proteínas, el proceso fundamental es la oxidación de aminoácidos que conduce a alteraciones estructurales y funcionales. La oxidación de proteínas catalizada por metales ha sido identificada como una modificación post-translacional covalente que puede ser importante en algunos procesos fisiológicos y patológicos tales como el envejecimiento, el recambio intracelular de proteínas, la artritis y las enfermedades pulmonares. Los ácidos nucleicos también han demostrado ser susceptibles al ataque producido por especies activas del oxígeno producidas en reacciones catalizadas por hierro” (GALLEANO y cols., 2000).

Otra vía de generación de peróxidos lipídicos deriva de la reacción directa del AGP con el oxígeno singlete, que corresponde al mismo oxígeno, pero con una conformación electrolítica distinta debido a una absorción de energía de esta molécula. En la reacción el oxígeno singlete reacciona directamente con el ácido graso, resultando la formación de peróxidos.

La lipoperoxidación puede ser considerada una consecuencia propia del estrés oxidativo, que produce un daño considerable a las paredes de las arterias, daño

ese característico de la aterosclerosis.

La producción de hidrocarburos halogenados, por apremio de la lipoperoxidación. En el caso del carbono tetraclorhídrico (CCL₄) y del bromobenzeno. El CCL₄, que tiene su metabolización localizada en el chito romo P450, el convertido hacia el radical CCL₃, o triclorometil radical. Su inestabilidad hace con que reaccione con el oxígeno, formando un radical peroxilo:



Tal radical es un gran atrapador de átomos de hidrógeno provenientes de lo lípidos, generando un efecto nocivo al hígado, por una evidente peroxidación lipídica



Para revertir tal proceso, o por lo menos amenizar sus consecuencias, son utilizados algunos antioxidantes muy característicos: los hidrocarburos halogenados.

Las formación de radicales libres también es un factor importante cuando hablamos de apoptosis. Su relación con esos agentes agresores es discutida en el tópico siguiente.

2.10.3 Vías de señalización

Las vías de señalización, según Bustamante son dependientes de algunas reacciones biológicas y moleculares directamente afectadas por estímulos apoptóticos. Estas vías involucran:

Tabla 8- Alteraciones mediadas por las vías de señalización

La unión de ligandos (moléculas específicas que se unen a un determinado receptor) con los receptores de muerte (death receptors)
La activación de cascadas de fosforilación y defosforilación, mediadas por diferentes familias de quinasas.
Cambios en el potencial de oxidorreducción.
Alteraciones en el metabolismo energético.
Reorganización de la estructura de canales iónicos en las distintas membranas, induciendo alteraciones en la homeostasis del calcio y otros iones en las distintas organelas.
Cambios en el pH intracelular.
Disfunción mitocondrial.
Activación de diferentes factores de transcripción.
Expresión de programas genéticos.
La activación de endonucleasas y proteasas que llevan a cabo la organizada desintegración, de gran parte de la estructura celular, típica de este proceso.

Fuente: BUSTAMANTE, 2000

2.10.4 Oxido nítrico y apoptosis

La presencia del óxido nítrico altera de manera sencilla el equilibrio entre la apoptosis y la replicación celular. El problema es que el óxido nítrico posee propiedades que favorecen el aumento de la actividad apoptótica. Otros estudios, entre tanto, insisten en afirmar que el óxido nítrico presenta actividad que disminuye la actividad apoptótica. Tal situación es explicada por el hecho de que las concentraciones de óxido nítrico utilizadas en las diferentes experiencias sufren alteraciones considerables.

Otro problema se debe a la poca elucidación al respecto del tema, o sea, primero es necesario la elucidación de *“cuales son los diferentes sitios de producción intracelular (mitocondria, retículo endoplásmico, y membranas citoplasmática) y cuales sus mecanismos de regulación, a través de los cuales las óxido-nítrico sintasas participan específicamente en una u otra vía de señalización”* (BUSTAMANTE, 2000).

Su acción en la cadena respiratoria es muy clara. El óxido nítrico interfiere en la cadena respiratoria a través del bloqueo a la actividad de la citocromo oxidasa, proporcionando la inhibición del transporte de electrones entre la ubiquinona, el citocromo b y el citocromo c. Promueve también la inhibición de la actividad de la NADH-

ubiquinona reductasa en el complejo I. *“Recientemente se ha encontrado la óxido nítrico sintasa, en mitocondrias de hígado, utilizando anticuerpos monoclonaes”* (BUSTAMANTE, 2000).

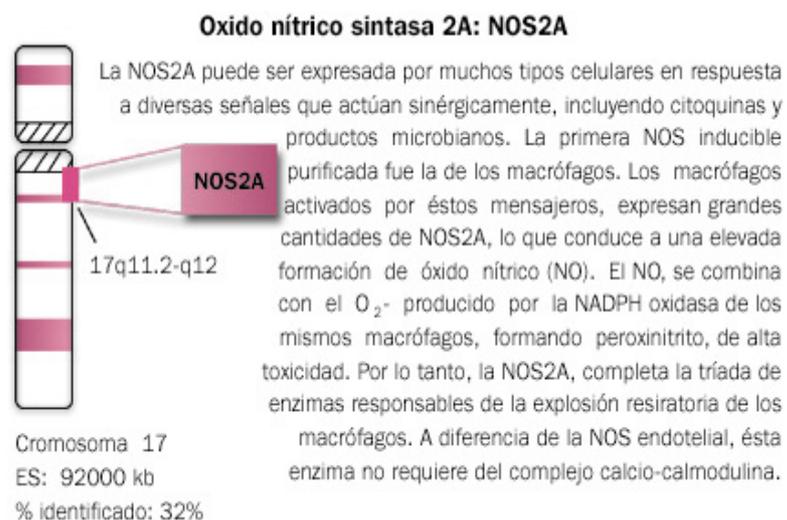
El estudio de Bustamante indica que hubo una clara pérdida de glutatión total y cito cromo c, a partir del momento que la producción de óxido nítrico, por parte de la mitocondria, se veía aumentado. Así, se puede afirmar que la producción de óxido nítrico, en células acometidas por el proceso de apoptosis, sería responsable por las alteraciones de las funciones mitocondriales.

Además el ONOO⁻ (peroxinitrito) formado por la interacción del NO y el O₂⁻ (anión superóxido), así como algunos nitrosotioles podrían ser los mediadores de los efectos celulares del NO. Estos mediadores podrían generar procesos de S-nitrosilacion/denitrosilacion en diferentes proteínas intracelulares pertenecientes a diferentes vías de señalización del proceso apoptótico. (BUSTAMANTE, 2000).

Se admite que el NO en bajas concentraciones ejecutaría un control sobre el consumo de oxígeno; permitiendo, así, que concentraciones de anión superóxido de hasta 10⁻⁹ M, fueran controladas por la superóxido dismutasa, o que controlaría las concentraciones de peroxinitrito. El aumento de la producción de NO, extra o intramitocondrial; haría con que se aumentase los niveles de ONOO⁻, impidiendo un buen funcionamiento de la cadena respiratoria, determinando así, una baja producción de ATP y una fuerte disfunción mitocondrial.

2.10.5 Oxido nítrico y la mitocondria

La formación de un radical libre conocido como óxido nítrico (NO) ocurre, en los sistemas biológicos, mediante la acción de la óxido sintetasa (NOS) y a partir de sustrato específico: la



L-arginina. En su síntesis están presentes varios componentes como: NADPH, tetrahidrobiopterina (THB₄), FAD y calcio. Al principio, desempeña varias funciones biológicas como neurotransmisor, vasodilatador y en el sistema inmunológico. El NO es tan importante, que su presencia delimita varias alteraciones en el ámbito de la fisiología, patología y farmacología.

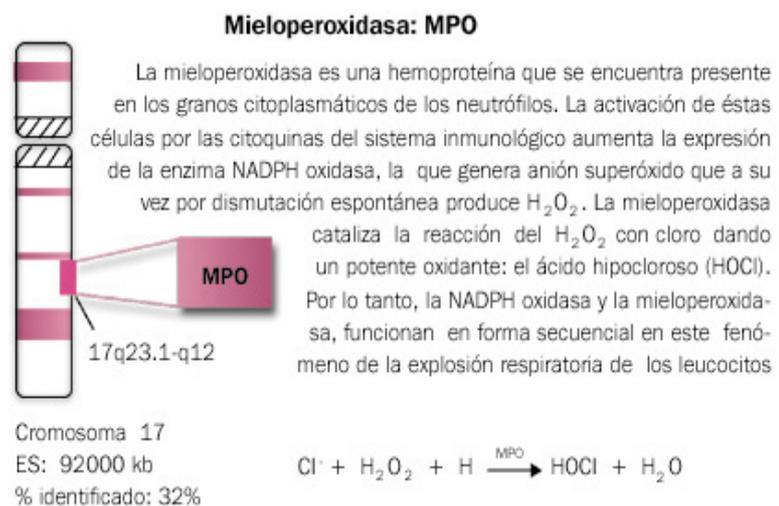
Su acción en la mitocondria (después de ser producida allí) se relaciona con la inhibición de la citotromo oxidasa por acción competitiva con esta enzima. De esa forma, observamos una alteración de las funciones de respiración mitocondrial, y por tanto, celular. Con eso, se procesa, un incremento de los niveles tisulares de oxígeno, que por su vez, también compite con el NO por su sitio activo, deprimiendo aun más la respiración. Con eso, tenemos un aumento de la glicólisis, para intentar regular el aporte de ATP.

Por tanto podemos afirmar que el óxido nítrico es un generador de radicales libres. El leucocito o polimorfonuclear (PMN) tiene un mecanismo de defensa que es responsable de la producción de especies reactivas del oxígeno (O₂) y del nitrógeno (N₂), sistema ese denominado de “burst” respiratorio, y con generación predominante de anión superóxido (O₂⁻). Este anión sufre una desmutación de forma que se convierte en peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y, más adelante en otras especies reactivas. La reacción entre el O₂⁻ y

NO forma peroxinitrito (ONOO), especie altamente oxidante que, a su vez, puede dar lugar al más tóxico de estos productos: el radical hidroxilo (HO[·]).

Hay algunas enzimas con la

ciclooxigenasa y la xantino-oxidasa, que también son fuentes generadoras de radicales libres. La enzima NADPH oxidasa de la membrana del PMN cataliza la producción de O₂⁻. Por la acción de la mieloperoxidasa, producida en los PMN, el O₂⁻ formado promueve el surgimiento de varias especies reactivas, como el ácido hipocloroso, que contiene un alto poder oxidante, situado entre 100 y 1000 veces más reactivo que su precursor.



2.11. Radicales libres: su formación más extrema

2.11.1 Formación

Lo cierto es que se considera el ejercicio físico como uno de los factores que contribuyen al mantenimiento de la salud. Son varios los beneficios que conlleva la práctica de deporte de forma responsable, controlada y habitual.

Algunos de los beneficios pueden ser mencionados, como la manutención homeostática de calcio, el control de la masa corporal, la contribución efectiva en el control de la presión arterial y dos niveles lipoproteicos de la sangre, o aun en varias enfermedades degenerativas como la diabetes mellitus, o la cardiopatía isquémica, puede aun mejorar el perfil lipídico del plasma, incrementar la densidad ósea, etc.

Entre tanto, la practica excesiva, sin control profesional puede convertir un ejercicio sano en un ejercicio agotador, que por supuesto es perjudicial para la salud. Las primeras evidencias de que el ejercicio físico extenuante podría conducir a la formación de especies reactivas de oxígeno fue confirmada mediante resonancia paramagnética de electrones a principios de la década de los ochenta. Esos radicales libres pueden producir un extenso daño muscular y una elevación considerable de la actividad enzimática, sobre todo de enzimas citosólicas en plasma sanguíneo (creatinquinasa, transaminasas o lactato dehidrogenasa).

En el caso específico de las ratas, el ejercicio agotador hace con que se disminuya el control respiratorio mitocondrial, con consecuente pérdida de la integridad de los retículos sarcoplasmático y endoplasmático, aumentando el nivel de radicales libres por medio de la lipoperoxidación.

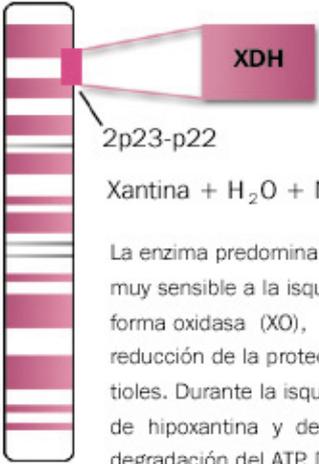
Los átomos presentan regiones espaciales definidas como orbitales. Cada orbital debe ser relleno por dos electrones para que la molécula química, o compuesto químico, se mantenga estable. En contrapartida, los radicales libres, por definición, son definidos como especies reactivas capaces de existir independientemente de presentaren un o más electrones desapareados

Esas evidencias de que la practica deportiva excesiva proporciona un aumento considerable de la producción de radicales libres presupone la generación de un considerable daño oxidativo en varios tejidos del cuerpo, como el tejido muscular, el

hígado, las células sanguíneas, no extinguiéndose una fuerte evidencia de que pueda dañar otras estructuras corporales. Eso puede ser mejor observado en atletas que se exponen a largos y extenuantes periodos de entrenamiento y ejercicio físico (deportistas de alta competición), generando el ya mencionado estrés oxidativo. Se supone que eso ocurre *“debido a procesos de isquemia y reperfusión que se producen en el músculo esquelético sobre exigido. La isquemia activa la enzima xantina oxidasa, la cual genera radicales libres y este parecería ser el principal mecanismo de producción de especies reactivas del oxígeno en estas circunstancias”* (CABRERA y cols., 2000). Las causas y efectos serán presentados durante la descripción del problema. Simultáneamente, se supone que los antioxidantes pueden proporcionar un aumento de rendimiento si son administrados durante los entrenamientos. Se estima que esas administraciones deben ser hechas durante periodos largos, de forma que los resultados sean visibles a largo plazo. Sus beneficios pueden *“verse reflejados en la disminución del deterioro del rendimiento corporal producido por el envejecimiento y en el incremento de los beneficios derivados de la práctica regular tanto en el atleta, como en el individuo físicamente activo”* (PACKER, 1999).

La mayor parte de los radicales de interés derivan del oxígeno y se denominan, genéricamente, especies reactivas de oxígeno. Se les ha implicado en múltiples procesos patológicos: algunos cánceres, diabetes, patología cardiovascular, procesos reumáticos, patologías gastroentéricas, afecciones broncopulmonares (...). Los radicales se forman en las células por gran cantidad de procesos, tales como "pérdidas" de

Xantina dehidrogenasa: XDH



La XDH cataliza la conversión de hipoxantina, un metabolito del ATP, en xantina y luego en ácido úrico.

$$\text{Xantina} + \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{XDH}} \text{ácido úrico} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

La enzima predomina en los endotelios vasculares, y siendo muy sensible a la isquemia, en presencia de ésta, vira a la forma oxidasa (XO), por un aumento del Ca^{2+} citosólico, reducción de la proteólisis, y por la oxidación de sus grupos tioles. Durante la isquemia, también existe una acumulación de hipoxantina y de xantina, ambos productos de la degradación del ATP. Durante la reperfusión, la XO cataliza estas reacciones formando el radical libre anión superóxido:

$$\text{Xantina} + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{XO}} \text{ácido úrico} + 2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+$$

Cromosoma 2
 ES: 255000 kb
 % identificado: 12%

La XO parece ser la fuente más importante de especies reactivas en situaciones de isquemia y desarrolla un rol crucial en el daño de reperfusión que se observa en numerosas situaciones clínicas. Es inhibida por el alopurinol.

electrones en la cadena respiratoria, activación de los leucocitos y reacciones enzimáticas, como la catalizada por la xantina oxidasa. También se forman en el metabolismo de fármacos y otros xenobióticos”. Un aspecto muy importante a considerar es el lugar de formación de estos radicales libres, ya que por su corta vida media actúan sobre las moléculas más vecinas a ellos.

Los radicales libres pueden causar daño en el DNA, por oxidación de las bases nitrogenadas o el azúcar que lo componen. Además, los metales pesados asociados al DNA pueden catalizar la síntesis del radical libre hidroxilo, a partir de formas moleculares de oxígeno activado más estables y menos tóxicas.

Asimismo, los radicales libres pueden actuar sobre moléculas presentes en el citosol tales como los nucleótidos de adenina o los grupos tioles que formen parte de proteínas o que tengan carácter no proteico. Entre estos, tiene una gran importancia el glutatión (GSH), tripéptido formado por un residuo de glutamato, uno de cisteína y otro de glicina. El GSH, sólo o en combinación con los mecanismos enzimáticos con los que actúa, forma parte del sistema de defensa de las células contra los radicales libres.

Una estructura celular especialmente susceptible al ataque de los radicales libres es la membrana, cuyos distintos componentes -enzimas, proteínas receptoras, canales iónicos y cadenas lipídicas- pueden ser dañados por los radicales libres conduciendo a la muerte celular.

En resumen los radicales que se forman en las células, si no son inactivados por la acción de los sistemas antioxidantes, producen lesiones en varias estructuras celulares atacando a los lípidos, a las proteínas, a los glúcidos y a los ácidos nucleicos. Es evidente que la protección contra la acción de estos radicales es de la mayor importancia” (CABRERA y cols., 2000).

Además de los músculos, otras estructuras, como el hígado, pueden estar implicadas cuando se observa la producción de radicales libres oriunda del esfuerzo físico. Ese proceso puede ser determinado, así como en el músculo, mediante a una análisis por resonancia sin-electrónica. De esa forma podemos afirmar que el hígado “*es una posible fuente de productos de peroxidación lipídica durante el ejercicio, ya que el flujo sanguíneo en ese órgano puede estar reducido a menos de 1/5 del normal*” (QUILES, 1995).

El Dr. Packer defiende que una de las principales fuentes de oxidantes (radicales libres), derivadas del ejercicio, vendrían de la producción de anión superóxido (O_2^-). Eso porque habría una pérdida de electrones a nivel de la ubiquinona-chito como b (presente en la cadena mitocondrial de transporte electrolítico). En este proceso observamos que durante el *ciclo del oxígeno* hay conversión de una parte del oxígeno (O_2) a superóxido (O_2^-), con producción subsiguiente de peróxido de hidrógeno

(H₂O₂). En una tercera etapa, hay formación de radical hidroxilo (HO·) con una evidente peroxidación lipídica.. Ese proceso depende del aumento de consumo de O₂ que puede llegar hasta 20 veces del normal. El aumento muscular es aun 10 veces mayor, con incremento, por supuesto, de la producción mitocondrial de O₂⁻

Durante el ejercicio intenso *“la demanda incrementada de energía puede dar lugar a una acumulación de iones hidrogeno así como un flujo aumentado de electrones a través de la cadena de transporte electrónico en la mitocondria”* (QUILES, 1995). Eso puede hacer con el nivel de oxígeno aumenten temporalmente por el alto nivel de reactividad del oxígeno, la presencia de iones hidrogeno y por la superabundancia de equivalentes de reducción de la cadena de transporte electrónico en ese momento de débito de oxígeno.

Además del mecanismo descrito anteriormente, es probable que debido a la disminución del flujo sanguíneo en varios órganos durante el ejercicio, la producción de radicales libres es aún más incrementada. Órganos y tejidos como los riñones, la región esplácnica, entre otros, ceden parte de su flujo sanguíneo a los músculos activos. Se supone que eso produce un estado de hipoxia, progresivamente mayor al aumento de la intensidad del ejercicio, siendo aun más problemática cuando se supera la capacidad aeróbica máxima (VO₂max). Otro agente importante para la producción de radicales libres es observado en el músculo, de forma que éste entra en un estado de hipoxia por insuficiente aportación energética. Ese proceso es definido como isquemia-reperusión. Al término del ejercicio ocurre una reoxigenación, de las áreas afectadas, que son reoxigenadas (el nivel de oxígeno vuelve al normal) , produciéndose, así, radicales libres.

Otro agrave con relación a la práctica deportiva dice respecto a deportes de resistencia e impacto mecánico que promueven la destrucción de los eritrocitos sanguíneos, lo que puede generar una anemia ferropriva, una vez que ese hierro puede ser integrado a la lipoperoxidación (ver tópico 6, cap.2).

Existe también un tercer mecanismo oriundo de la autooxidación de catecolaminas. Durante el ejercicio físico las catecolaminas son responsables por aumentar la resistencia cardiaca para que promueva más sangre a los músculos. También es verdad, que *“promueven la glucogenolisis en el hígado para suministrar glucosa a los músculos y estimular la movilización de los ácidos grasos”* (QUILES, 1995).

El aumento de sus niveles durante el esfuerzo produce la dismutación, que

consiste en una reacción con una molécula de estructura similar, bajo la presencia de protones, produciendo peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La catálisis de la reacción es hecha por la enzima superóxido dismutasa (SOD). *“El H_2O_2 formado puede reaccionar con metales de transición para producir el radical hidroxilo (HO), una de las especies más tóxicas y reactivas del oxígeno, que reacciona con la primera molécula que encuentre a su alcance. El HO, por lo tanto, puede dañar proteínas, lípidos y ácidos nucleicos”* (PACKER, 1999).

El problema principal oriundo de la formación de radicales libres es el daño oxidativo que sufre las células corporales. Este daño se procesa mediante una serie de reacciones en una única célula o intermoleculares de forma que se observa un entrecruzamiento de cadenas de ADN, proteína o lípidos, provocadas particularmente por especies químicas altamente reactivas. El reflejo de los daños puede ser percibido incluso con el aceleramiento del envejecimiento o de enfermedades relacionadas con él.

Otro mecanismo, también altamente estudiado procede del metabolismo de la xantina oxidasa que procede de la activación de la adenilato quinasa y un subsiguiente aumento de AMP y hipoxantina. Tal proceso se inicia a partir del momento que el organismo se ve carente de ATP durante el ejercicio físico. Alternativamente, la producción energética debe tomar caminos alternativos, lo que lleva el organismo a producir ATP por la vía del adenilato quinase, al utilizar el ADP y el H^+ proveniente del entorno muscular, *“(…) lo cual a su vez provoca un riesgo de acumulo de hipoxantina en la célula y puede pasar a células endoteliales desde donde se puede transformar en ácido úrico en presencia de (…) xantina oxidasa”* (QUILES, 1995). El AMP acumulado sufre eliminación promoviendo una amplia producción de hipoxantina en el músculo y en el plasma.

Entre los inhibidores de la xantina oxidasa podemos citar el alopurinol, que en su metabolización se forma un fuerte inhibidor a la enzima: la aloxantina. El tungsteno sustituye una molécula de molibdeno de la enzima, inhibiéndola.

Afortunadamente el cuerpo humano ha desarrollado mecanismos de defensa propios, que combaten de forma eficaz la acción de los compuestos oxidativos. Tales procesos son mediados por enzimas y compuestos bioquímicos. Sin embargo, se puede observar que el aumento de la producción de radicales libres es un factor limitante de las defensas corporales, mismo que podemos afirmar que tal sistema sufra un aumento espectacular en sus líneas de defensa contra todos los tipos de radicales libres formados. Así, muchas veces, se hace necesario, mismo en atletas bien entrenados, una

complementación exógena de antioxidantes. La adecuación de las defensas ante situaciones repetidas de estrés oxidativo se hacen presentes en varias situaciones distintas. En el caso del entrenamiento, en presencia de una dieta apropiada la adecuación de las defensas puede ser eficaz. A pesar de ello, un nivel exagerado de entrenamiento suplanta la adaptación corporal.

2.11.2 La actuación antioxidante

En ratas entrenadas existe la producción de *“un aumento en la biogénesis molecular (...) y una actividad SOD en los músculos (...) que puede indicar un superproducción de radicales libres y un defensa contra ellos inducida por el ejercicio”* (QUILES, 1995).

La acción aditiva y sinérgica de los antioxidantes se basan en la interacción con el sistema redox (oxidorreducción) y no redox, y se hacen presentes en medio acuoso y lípido *“Entre los antioxidantes liposolubles se encuentran: la vitamina E, el ubiquinol o coenzima Q y varios carotenoides derivados de la cadena alimenticia. La mayoría de los antioxidantes, (...), el ascorbato o vitamina C, tioles y ubiquinonas, se basan en principios de reacciones redox. Los carotenoides y flavonoides son también poderosos antioxidantes”* (PACKER, 1999).

La administración controlada de antioxidantes, tales como glutatión, N-acetilcisteína, etc., pueden reducir el daño oxidativo. El alopurinol, por ejemplo, puede actuar sobre algunas enzimas, como la xantina oxidasa, impidiendo el aumento en plasma de enzimas citosólicas que reflejan daño tisular tales como: creatinquinasa y aspartato-aminotransferasa (CABRERA y cols., 2000).

Otro efecto observado con la práctica de deporte es el aumento de las concentraciones de ácido úrico, que es un antioxidante plasmático. También podemos mencionar otra sustancia que presenta el efecto protector contra los radicales libres, que es la coenzima Q.

2.11.3 Protección antioxidante

Las defensas corporales contra la actuación de los radicales libres provienen de varios niveles. Su localización puede ser encontrada tanto en el medio acuoso cuanto en el medio lípido. *“Entre los antioxidantes liposolubles se encuentran: la vitamina E, el ubiquinol o coenzima Q (...) derivados de la cadena alimenticia. La mayoría de los antioxidantes, incluyendo la Vitamina E, el ascorbato o vitamina C, tioles y ubiquinonas, se basan en principios de reacciones redox”*. (PACKER, 1999). Los carotenoides y flavonoides son también poderosos antioxidantes. Tales antioxidantes son distribuidos en varios sistemas distintos que engloban mecanismos de prevención, otros que impiden el desarrollo de reacciones en la cadena respiratoria; presenta mecanismos de reparación a los efectos oxidativos, además de adaptarse a algunas situaciones de estrés.

Los mecanismos preventivos actúan de manera determinante. Cuando se empieza el daño oxidativo, sea por la presencia de peróxido de hidrógeno u otros peróxidos, el cuerpo humano le saca a fin de evitar la propagación de la cadena de peroxidación. Entre ellos podemos citar las enzimas peroxidasas o sustancias de otras clases como los carotenóides.

Las dos peroxidasas más importantes para evitar la propagación de tal daño son la catalasa y la glutatión peroxidasa. La catalasa, sobretodo, inutiliza la acción del peróxido de hidrógeno, pero solamente en presencia de una alta concentración del agente agresor, ya que hay que mencionar su baja afinidad por ese compuesto. En contrapartida, actúa en procesos inflamatorios a través *“de la supresión de las alteraciones morfológicas producidas cuando la glucosa y la glucosa oxidasa (un sistema que genera peróxido de hidrógeno) se hallan muy activos”* (QUILES, 1995) reduciendo de forma determinante el aporte de neutrófilos, el acumulo de fibrina y el edema en células alveolares. Lo mismo no puede ser proporcionado por la superóxido desmutasa, por ejemplo.

La glutation peroxidasa presenta una mayor afinidad por el peróxido de hidrógeno, pero presenta una baja actividad delante de concentraciones muy significativas de ese compuesto, lo que supone una mejor eficiencia en la eliminación del oxidante justo cuando es producido en la cadena respiratoria. Pero se trata de una enzima dependiente del entrenamiento

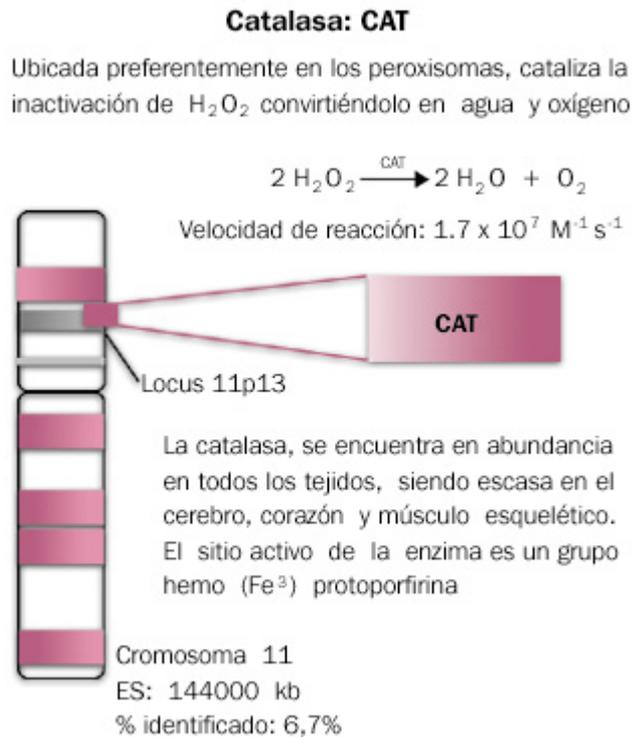
deportivo, de forma que individuos no entrenados presentan niveles más bajos de enzima.

Existen también los queladores de metales de transición que se ocupan del incautación de esos metales, sobretodo el hierro (ver cap.2 tópico 6), que son fundamentales para que se proceda algunas situaciones de estrés oxidativo. Entre sus representantes, encontramos la transferrina, “una proteína encargada del transporte de hierro a la que se unen dos moléculas por unidad; otra es la ferritina, que se encarga del almacenamiento de hierro, (...) y la ceruloplasmina que secuestra el cobre” (QUILES, 1995).

Los carotenoides (β -caroteno y licopeno) actúan de preferencia en presencia de otros antioxidantes, además de dependeren de la concentración de oxígeno.

Burton informó sobre los efectos de las variaciones en la presión parcial de oxígeno y la concentración de β -caroteno, comprobándose que éste es un efectivo antioxidante sobretodo a baja presión parcial de oxígeno (...). Si tenemos en cuenta que la presión parcial de oxígeno hallada en tejido de mamíferos usualmente es inferior a 20 torr, estas observaciones sugieren un importante papel del β -caroteno como antioxidante en tales ambientes.

(...) la estructura química (...) también tiene importancia en su capacidad de limpiador o eliminador de radicales libres. Igualmente se ha visto la interacción entre carotenoides y otros



antioxidantes, de este modo en microsomas suplementados con β -caroteno y α -tocoferol se ha podido comprobar un efecto sinérgico” (QUILES, 1995).

Las defensas orgánicas presentan otro sistema que impide la cascada de propagación de la peroxidación lipídica a través de una neutralización directa de los radicales libres al transformarlos en compuestos no radicales. Como ejemplos de este grupo podemos citar las superóxidos desmutasas, como la albúmina, el ácido ascórbico, ácido úrico, bilirrubina y los tioles (todas hidrofílicas); la vitamina E y el coenzima Q (lipofílicas).

Las superóxidos desmutasas se dividen específicamente en tres formas distintas, de forma que por afinidad fueron agrupadas en dos familias: las de cobre-zinc y magnesio-hierro. Su actividad principal es la de convertir el radical superóxido (O_2^\bullet) en peróxido de hidrógeno impidiendo el daño oxidativo, además de su interacción con metales, que proporcionaría la producción de radicales

hidroxilo. Por su vez el peróxido de hidrógeno entra en la vía de eliminación mediada por la catalasa y la glutatión peroxidasa.

De todas las vitaminas liposolubles (con efecto antioxidante) la que más se destaca es la vitamina E. De las hidrosolubles se destaca la vitamina C. Su interrelación no se resume a sí mismas, sino a otros sistemas antioxidantes.

Varias hidroxilasas (prolil hidroxilasa, lisil hidroxilasa, etc.) son biodependientes de la actuación como cofactor de la vitamina C. La deficiencia de esa vitamina genera una enfermedad denominada escorbuto, ya que entre sus acciones, la vitamina C es uno de los responsables de la estabilización de la triple helix del colágeno, lo que proporciona la debilidad de los vasos sanguíneos. Además de su

Glutatión peroxidasa 3 plasmática: GPX3

La glutatión peroxidasa cataliza la reducción de peróxidos, hidroperóxidos orgánicos y peróxidos lipídicos, utilizando como sustrato el glutatión reducido (GSH), que es transformado en glutatión oxidado (GSSG);



La GPX es una metaloproteína que contiene selenio en su núcleo activo

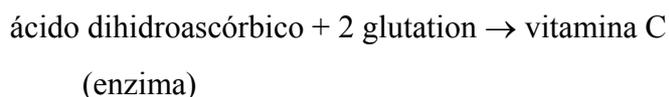


GPX3

5q23

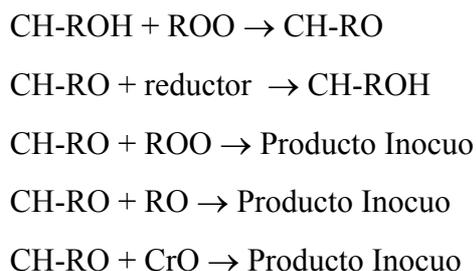
Cromosoma 5
ES: 194000 kb
% identificado: 11,6%

participación en la prevención de enfermedades¹⁷, podemos observar su actividad neutralizadora de especies como el H₂O₂, el O₂⁻ y el ácido hipocloroso. Durante la reacción, la vitamina C es convertida en ácido dihidroascórbico, pero puede ser reconvertida en vitamina C por actuación del glutatión que es otro antioxidante endógeno de acción importante en la inactivación de hidroperóxidos. La reconversión del ácido dihidroascórbico en vitamina C esta especificada abajo:



Todo el proceso depende de la participación catalítica de enzimas como la dehidroascorbato-reductazo, tiol-transferasa o proteína-ditiol-isomerasa que revierten el dehidroascorbato a ascorbato o vitamina C.

La vitamina E actúa sobre radicales peróxidos y los convierte en hidroperóxido hiporreactivo. Actúan, entonces, como bloqueadores de la reacción de peroxidación lipídica en las membranas celulares. *“La vitamina E al donar un electrón y oxidarse se transforma en un radical (ChrO.) que también es hiporreactivo y puede recuperar su estado original (ChrOH) al reaccionar con un reductor o seguir nuevas reacciones al combinarse con un radical peroxilo, alcoxilo o con otro radical de vitamina E formando productos inocuos”* (PACKER, 1999).



Una curiosidad al respecto de la vitamina E es que es la mayor protectora de la membrana mitocondrial, independientemente de que su concentración endógena sea muy baja (menos de 0,1 nM por mg de proteína de membrana). Los radicales libres son producidos en concentraciones de 1 a 5 nM por mg de proteína de membranas por

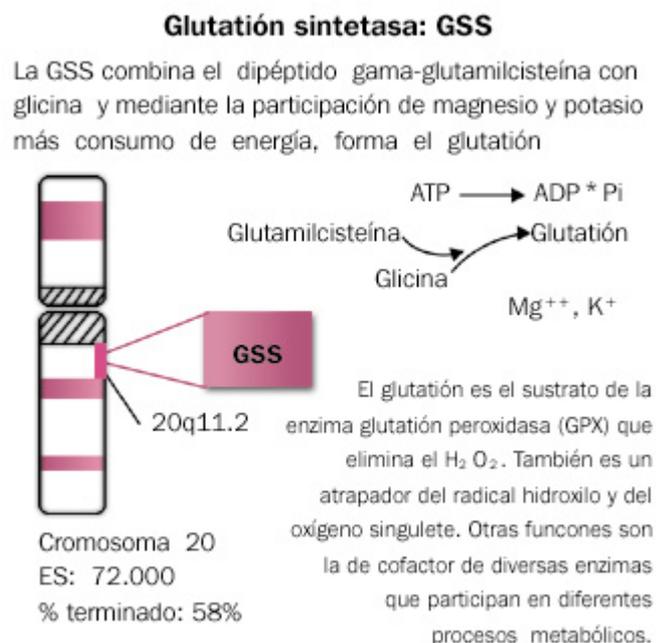
¹⁷ Dosis de 10 mg/día son suficientes para prevenir el escorbuto, pero su efecto antioxidante depende de dosis más altas.

minuto, pero las cantidades de vitamina E no solo son suficientes para impedir la destrucción de las paredes mitocondriales, sino también para impedir que sean totalmente consumidas por los reactivos. Se admite hipotéticamente que proceda de una reconversión de la vitamina E, mediada por la reacción de los radicales libres, de su forma de radical tocoferilo o cromanoxilo, a su estado original, a través de la acción de otros antioxidantes. *“La reacción es dependiente de la interacción de sustancias liposolubles e hidrosolubles –con participación, o no, de mecanismos enzimáticos– reduciéndose la vitamina E de su forma tocotrienoxilo o tocoferoxilo a su estado de tocotrienol o tocoferol, respectivamente”* (PACKER, 1999).

Además de las vitaminas E y C, otras sustancias como la glutatión peroxidasa, catalizadora de la descomposición de los peróxidos y la glutatión reductasa, reductora del glutatión oxidado, también contribuyen para impedir la peroxidación (como mencionado en los párrafos anteriores). Incluso sus niveles sanguíneos pueden aumentar por el entrenamiento.

La coenzima Q también presenta un papel fundamental como antioxidante. Su transporte es hecho en su forma reducida (ubiquinol) por lipoproteínas presentes en la circulación. Su acción antioxidante es observada por la disminución de los niveles oxidativos de los ácidos grasos lipoproteicos. Su conversión en ubiquinona después de oxidada es una de

sus características. *“La ubiquinona ha mostrado ser el primer antioxidante que se consume cuando el plasma es sometido a un estrés oxidativo in vitro, y (...) posee un papel importante en prevenir la iniciación o propagación de la peroxidación lipídica en el plasma y en las lipoproteínas de membrana; adicionalmente, ha evidenciado in vitro su protección sobre la oxidación de las bases nucleicas de ADN. Los estudios realizados sobre el envejecimiento mostraron que los niveles máximos de concentración de CoQ10 en humanos se alcanzan a la edad de 20 años, produciéndose luego una*



declinación sostenida. Se ha postulado que el proceso de envejecimiento y las patologías con él asociadas pueden estar relacionados con una disminución de la capacidad del organismo para mantener niveles titúlales adecuados de CoQ10, con una consecuente disminución de las defensas antioxidantes” (MARASCO y cols., 1999).

Capitulo 3- MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 - Material

3.1.1- Productos Químicos

En las determinaciones analíticas que se procesaron para la conclusión de este proyecto se utilizaron reactivos y solventes procedentes de los laboratorios FLUKA (St. Louis, MO, USA); MERCK (Darmstadt, Alemania); SIGMA (St. Louis, MO, USA); PANREAC (Barcelona, España); BOEHRINGER (Manheim, Alemania); y ROCHE (Basel, Suiza), donde de acuerdo con la legislación vigente, proporcionan total calidad en sus productos.

En determinaciones de proteína, vitamina y ácidos grasos los patrones utilizados fueron proporcionados por SIGMA y FLUKA; y los homólogos de CoQ₆, CoQ₈, CoQ₉ y CoQ₁₀ fueron suministrados por PHARMITALIA (Milan, Italia). Los reactivos utilizados en HPLC provienen del laboratorio MERCK.

En lo que se refiere a la dieta el aceite de oliva y de girasol provienen de un supermercado de la ciudad de Granada y los demás componentes de MUSAL CHEMICAL (Granada, España).

3.1.2- Aparatos de uso general

Se utilizó un congelador modelo REVCO — VLT-1786-55-VUA — (REVCO SCIENTIFIC, USA) que mantiene la temperatura a -80°C, en la conservación de las muestras de tejido cardíaco, además de las innumerables alícuotas conseguidas a partir de muestras frescas del mismo tejido, procesadas y separadas en fracciones celulares distintas, que se utilizaron para posteriores determinaciones. Para otros compuestos como tampones y soluciones, que necesitaban una conservación a temperaturas de 4°C, se utilizó un frigorífico modelo LIEBHERR (Ochsenhausen, Alemania).

Para la medición del peso de las sustancias que así lo necesitaban para su utilización en concentraciones específicas en los diversos análisis se utilizó una báscula de precisión ESCALTEC, modelo SBA-32 (Denver Instruments, Weda, Holanda).

Para la determinación del pH, cuando así lo requería la solución, se utilizó un peachímetro o electrodo combinado de pH (CRISON Instruments S.A, Allela, Barcelona). En mencionado aparato se utilizaran como tapones de calibración, que sirven para establecer parámetros correctos de medición, tampones de pH definida (4,00 y 7,02) elaboradas por CRISON.

Cuando el análisis requería agitación, se utilizó un agitador manual modelo STUART SCIENTIFIC, AUTOVORTEX MIXER (Jepson Bolton's Products, Reino Unido). La disolución de las sustancias reactivas que necesitaban agitación se procesó en un magnetoagitador SELECTA modelo Agimatic-E (Abrera, Barcelona, España). La necesidad de hielo picado para la conservación de muestras durante su manejo y procesamiento fue suprimida por la obtención del mismo proveniente de una máquina de hielo modelo SCOTSMAN – AF-10 (Milán, Italia).

Durantes los ensayos analíticos se emplearon pipetas automáticas BIOHIT (BIOHIT PROLINE PIPETTE, Helsinki, Finlandia). Se utilizaron microjeringas HAMILTON (Bonaduz, Suiza) en analíticas que dependían de la utilización de soluciones madres de cada una de las curvas patrón determinadas.

Para determinaciones que requerían temperaturas constantes se utilizó un baño de capacidad máxima de 12 litros y temperatura de 110°C de la marca MEMMERT (Schwaback, Alemania). Los demás aparatos de uso específico serán detallados en los respectivos análisis donde son requeridos.

3.1.3 – Material biológico

3.1.3.1 – Animales

Un número total de 400 ratas machos (*Rattus norvegicus*) fue dividido al azar en 4 grupos de 100 cada. Su peso inicial rondaba los 80-90g y se trataban de ejemplares Wistar. En el Servicio de animales del Laboratorio de la Universidad de Granada se produjo el mantenimiento y cuidado de todos los ejemplares. Tal laboratorio está vinculado y depende del Centro de Instrumentación Científica de la misma Universidad. Además, en el propio centro la manutención de las condiciones de higiene y salud de los animales está condicionada por la visita periódica de veterinarios.

La habitación donde se encontraban los animales estaba termoregulada a temperatura de $22\pm 1^{\circ}\text{C}$; y 60% de humedad relativa del aire. Las ratas también son sometidas a un fotoperiodo de 12 horas de luz (8:00-20:00h) y 12 horas de oscuridad (20:00-8:00h).

3.1.3.2 – La dieta

La formulación de las dietas siguieron lo criterios del AIN-93 (REEVES, PG. 1997). Las dietas biosintéticas y en algunos casos sufren pequeñas adaptaciones respectando tales criterios. En la tabla X, Y, Z se puede apreciar la composición y complementos utilizados.

Tabla 9- Composición de la dieta

Componente	Porcentaje (%)
Almidón	15
Sacarosa	47
Celulosa	5
Caseína	17,5
Metionina	0,3
Colina	0,2
Leche en polvo	2
Grasa ¹⁸	8
Corrector vitamínico	1
Corrector mineral ¹⁹	3,5

¹⁸ El tipo de grasa varia de acuerdo con cada grupo (aceite de girasol o oliva)

¹⁹ Se adiciona corrector vitamínico porque las ratas reciben agua destilada como fuente de hidratación

Tabla 10- Corrector vitamínico y mineral

Componente vitamínico	mg/Kg	Componente mineral	mg/Kg
Tiamina	0,600	Fosfato cálcico dibásico	500,00
Riboflavina	0,700	Cloruro potásico	74,00
Piridoxina	0,700	Citrato potásico	220,00
Ácido Nicotínico	3,000	Sulfato potásico	52,00
Pantotenato Cálcico	1,600	Óxido de magnesio	24,00
Ácido Fólico	0,200	Carbonato de manganeso	3,50
Biotina	0,020	Citrato férrico	6,00
Cianocobalamina	0,001	Carbonato de cinc	1,60
Vitaminas A+B	1,000	Carbonato de cobre	0,30
Vitamina E	10,000	Yoduro potásico	0,01
Vitamina K	0,005	Selenito sódico	0,01
Sacarosa	982,274	Sulfato crómico potásico	0,55
—————	—————	Sacarosa	118,03

La preparación de la dieta se procesaba semanalmente. Su almacenaje se producía a 4°C para evitar su rancificación. El contenido de los ácidos grasos de acuerdo con las diferentes fuentes que se utilizaron (aceite de oliva o de girasol) pueden ser apreciadas en la tabla 11

Tabla 11- Contenido de los ácidos grasos del aceite de oliva y girasol.

Compuestos	Aceite de oliva (%)	Aceite de girasol (%)
C16:0	8,92	12,6
C16:1n-7	1,06	0,2
C18:0	1,97	1,9
C18:1n-9	78,73	24,1
C18:2n-6	8,36	60,1
C18:3n-3	0,96	1
Saturados totales	10,89	14,6
Insaturados totales	89,11	85,4
Monoenos totales	79,79	24,3
Dienos totales	9,32	60,1
Dienos / monoenos	0,1	2,4
α -tocoferol (mg/kg) ²⁰	139,7 + 346,3	486

²⁰ El aceite de oliva virgen sufrió la adición de la cantidad de 346,3 mg/kg de α -tocoferol debido a que esta es la diferencia de cantidad entre él y lo que encontramos en el aceite de girasol utilizado. Tal hecho

3.2 – Métodos

3.2.1- Diseño experimental

Los animales fueron repartidos al acaso en cuatro grupos. A lo largo del experimento las ratas recibieron dietas isocalóricas e isoenergéticas; también específicas, donde se diferenciaban en el tipo de grasa y en la presencia o no del antioxidante coenzima Q (CoQ₁₀). Tal preparación, se produjo en el Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Granada. Partiendo de lo afirmado arriba observamos los siguientes grupos:

1) Grupo aceite de oliva: la composición de la dieta presentaba una cantidad de grasa equivalente a 8% de su total

2) Grupo aceite de girasol: la composición de la dieta presentaba una cantidad de grasa equivalente a 8% de su total

3) Grupo aceite de oliva + CoQ₁₀: la composición de la dieta era similar al grupo aceite de oliva, además de presentar en su composición la adición de 0,7mg/kg/día de CoQ₁₀.

4) Grupo aceite de girasol + CoQ₁₀: la composición de la dieta era similar al grupo aceite de girasol, además de presentar en su composición la adición de 0,7mg/kg/día de CoQ₁₀.

3.2.2- Sacrificio de los animales

El sacrificio de las ratas se hizo periódicamente respetando un intervalo de seis meses entre un sacrificio y otro. De esa forma, se realizó un sacrificio a los 6; 12; 18 y 24 meses de 8 ejemplares de cada grupo. La razón que explica porque el estudio se inició con una cantidad extremadamente superior de ratas al la que al final es sacrificada se debe a prácticas previas de experimentos anteriores, que permite que llevemos en cuenta la mortalidad de los mismos. La muerte se aplica por desnucación cervical y posterior decapitación con guillotina. Se procede en seguida con la extracción de los órganos que son el objeto de estudio. Se extrae el hígado, corazón, cerebro, músculo estriada esquelético (*Vastus laterales*), además de plasma, linfocitos y sangre periférica.

3.2.3 – Procesamiento de órganos y extracción de mitocondrias

Después del sacrificio de las ratas y sus órganos deben ser extraídos y procesados. Primeramente el órgano es lavado en suero fisiológico y pesado. En seguida se inicia su procesamiento. Se adiciona el tampón. Para corazón se utiliza tampón sacarosa. La cantidad de tampón utilizada varía²¹ de órgano para órgano. Dicho tampón de sacarosa posee una concentración de 0,32M (sacarosa 0,32M; TRIS 10 mM; EDTA-Na₂ 1mM).

El órgano es entonces troceado en cuchilla automática. Se utilizó una cuchilla modelo PT 10-35 (POLYTRON, Kinematica AG, Lucena, Suiza). Se procedió a seguir su homogenización en homogenizador automático compuesto por un pistilo de teflón (HEILDOLF RZR1, Colonia, Alemania) siendo enseguida traspasado por filtración simples (utilizándose gasa como filtro) a dos tubos grandes, para ser sometido a una centrifugación a 2000 rpm, por 10 minutos, a 4°C. La centrifuga utilizada es del

²¹ Para corazón se utiliza 25 ml de tampón sacarosa; para músculo 80 ml de tampón sacarosa y para cerebro 15 ml de tampón sacarosa. Para hígado se adiciona 80 ml de tampón sacarosa-albúmina. La albúmina es utilizada en el caso del hígado con el proposito de eliminar una mayor cantidad de grasa.

modelo J-21 de BECKMAN (Palo Alto, California, USA).

El pelet es desechado y el sobrenadante es llevado a otra centrifugación, pero a 8000rpm por 20 minutos, también a 4°C. A partir de aquí se separan el sobrenadante y el pelet (precipitado en la base del tubo) que ya contiene uno de los objetos de separación, las mitocondrias.

El sobrenadante es sometido a una tercera centrifugación a 10000rpm por 10 minutos (a 4°), de forma que el pelet o precipitado dicha centrifugación debe ser separado, y posteriormente, resuspendido, juntamente con el pelet de la centrifugación anterior, en 25 ml de tampón. El sobrenadante de esta etapa corresponde al citosol.

Después de la mencionada resuspensión en 25 ml de tampón, lo sometemos a una centrifugación a 12000rpm por 15 minutos. El sobrenadante²² es desechado. El pelet, conteniendo mitocondrias es resuspendido en 1 ml de tampón²³ en el caso de corazón, separados en porciones de 0,5ml en 4 viales y congelados enseguida a -80°C.

3.2.3 – Técnica para el procesamiento de la sangre: extracción de linfocitos, plasma, citosol y mitocondrias

En el momento del sacrificio se recoge la sangre de las ratas. Para evitar la coagulación del mismo, se utiliza 850µl de heparina. La sangre entonces es sometida a centrifugación a 2500 rpm, por 15 minutos, a 4°C (sin freno para que non se mezcle las fases).

Después de la centrifugación, se observa claramente la separación de fases en el tubo de ensayo. La fase superior corresponde al plasma, que debe ser transferido, con una pipeta, a los viales para inmediata congelación (-80°C). La fase intermedia, que encierra los linfocitos, es transferida a tubos de ensayo con tampón PBS (1X). Después de esta mezcla, se transfiere el contenido a otro tubo conteniendo histopaque, para luego centrifugarlos a 1750 rpm, por 30 minutos, sin freno.

Otra vez, se transfiere el halo intermediario a un tubo de ensayo conteniendo

²² Ese sobrenadante contiene otras organelas celulares como complejo de golgi, retículo endoplasmático, etc.

²³ En el caso de hígado se resuspende en 2ml, para cerebro y musculo 1 ml.

3ml de PBS para realizar una tercera centrifugación a 1750 rpm, por 15 minutos, con doble freno. Se elimina el sobrenadante y se resuspende en 1ml de PBS (1X) La muestra ya esta lista para el congelamiento (-80°C).

De la fase inferior de la primera centrifugación sacaremos las membranas mitocondriales. Para eso después de aislar los linfocitos añadimos solución hipotónica (entre 20 y 25 ml) y procedemos a una centrifugación a 15.000rpm por 15 minutos. El sobrenadante corresponde al citosol. Repetimos esta paso 3 veces más, eliminando el sobrenadante del tubo y guardando el pelet. Se procede una resuspensión con 1 ml de solución hipotónica y se lleva al congelador a -80°C.

3.2.3 – Determinaciones analíticas en mitocondria de corazón: determinación cuantitativa de proteínas.

Es una técnica que fue empleada siguiendo su original de 1951 de Lowry y cols basada en reacciones complementarias. Se trata de una técnica imprescindible a la realización de otras técnicas, una vez que con los resultados conseguidos podremos determinar la concentración de proteínas (en mg/ml, $\mu\text{l}/\mu\text{g}$ o en mg/g de órgano fresco) que es fundamental para algunas técnicas implicadas en la determinación enzimática.

Se utiliza el biuret, que proporciona color violeta a ala muestra debido la presencia de NH_3 . El folin produce un color azul, debido la presencia de grupos fenólicos con OH reductores.

Reactivos

- a) Tampón sacarosa
- b) Solución del Folin
- c) Solución de Biuret (preparado por la mezcla de dos soluciones distintas)

Solución A: Carbonato de sodio²⁴

Solución B: Sulfato de cobre pentahidratado y tartarato sódico²⁵

²⁴ Solución de Sosa (NaOH) y carbonato de sodio (Na_2CO_3).

Preparación de Reactivos

a) Tampón sacarosa (pH = 7,6).

Para preparar el tampón sacarosa es necesario pesar 109,536g de sacarosa (0,32M y PM = 342,30); 1,244g de Tris (10mM y PM = 123,14); y 0,3732g de EDTA (3mM y PM = 372,24)²⁶, completando el volumen para 1 litro con agua bidestilada. Si se quiere preparar el mismo tampón con albúmina a 0,4%; se adiciona 4 g de esa sustancia.

b) Solución del Folin

El Folin es un reactivo industrial que debe ser diluido, en proporción de 1:1, con agua bidestilada.

c) Solución del Biuret.

Para preparar la solución A o solución de Sosa (NaOH) y carbonato de sodio (Na₂CO₃) es necesario pesar 4 g de sosa y 20 g carbonato de sodio (Na₂CO₃), completando el volumen para 1 litro con agua bidestilada.

Para preparar la solución de sulfato de cobre 1% (Cu₂SO₄) y tartarato de sodio 2%.es necesario pesar 1g de sulfato de cobre (Cu₂SO₄), completando el volumen para 100ml con agua bidestilada. Paralelamente se prepara una solución de tartarato de sodio, pesándose 2 g de esa sustancia en volumen da agua bidestilada necesario para completar 100ml. Enseguida se mezclan las dos soluciones en proporción de 1:1 (o 50:50).

Al final, la solución de Biuret es preparada por la mezcla de las dos soluciones en proporción de 50:1, o sea 50 partes de la solución A para cada parte de la solución B (o 50:1).

²⁵ Solución de sulfato de cobre (Cu₂SO₄) y tartarato de sodio.

²⁶ Si el peso molecular (PM) del EDTA es de 292,24; se debe pesar 0,2922g.

Procedimiento:

La experiencia debe ser hecha en duplicata. El blanco también debe ser preparado en duplicata. Su preparación sigue el mismo procedimiento de preparación a seguir, pero no se añade la muestra.

En un tubo de ensayo debemos añadir la muestra²⁷, además de un volumen de tampón sacarosa suficiente para completar 1ml. Enseguida, adicionamos 5 ml de Biuret, manteniendo los tubos en la oscuridad, a la temperatura ambiente (25°C), por 20 minutos. Entonces, se adiciona 0,5 (o 500 µl) del Folin. Después de 15 minutos más, se procede la lectura a 640nm. Tal densidad óptica (DO) fue determinada utilizando un espectrofotómetro PERKIN ELMER UV-VIS Lambda-16 (Norwalk, Connecticut, USA). El programa utilizado para la lectura se trata de un paquete de software diseñado para la análisis espcotofotómetro UV-WINLAB.

Los dos tubos del blanco deben tener sus absorbancias determinadas de antemano, una vez que para realizar las lecturas de las muestras, en blanco con menor absorbancia debe estar en la parte posterior de espectrofotómetro, mientras el otro debe estar en la parte anterior.

La determinación de proteínas sigue la ley o ecuación de Lambert-Beer donde los datos son sobrepuestos en una curva patrón preparada de antemano y que utiliza como proteína la albúmina sérica bovina.

3.2.4 – Medida de la concentración de hidroperóxidos por la técnica de FOX

La técnica realizada es la de JIANG Y COLS (1992) algo modificada. Tratase de una técnica que se basa en la reacción donde el Fe^{2+} reducido pasa Fe^{3+} oxidado, de forma que la reacción se caracteriza por una donación de un anión negativo mediado por la acción del reactivo de FOX.

El xilenol orange (XYL. OR.) es un colorante sensible a las oxidaciones del

²⁷ Para hígado y corazón se utilizan 10µl y 50µl respectivamente, tanto para el citosol, cuanto para las mitocondrias. Para músculo y cerebro se utilizan 50µl para el citosol y 25µl para las mitocondrias.

hierro, caracterizándose por presentar un color naranja delante de esos cambios. El caso de hidroperóxidos, esa situación está bien ejemplificada puesto que el hierro actuaría como metal de transición en la peroxidación. Cuanto mayor sea la presencia de hidroperóxidos, mayor será la intensidad del color naranja.

El amonio sulfato ferroso (AMN. SUL.) es la fuente de hierro para la peroxidación, mientras el 2-2-Azobis amidinopropano (AAPH) sería un fuerte inductor de la peroxidación lipídica, así como casi todos los compuestos azo.

Reactivos

- a) FOX .
- b) Ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 250nM en cantidad suficiente para completar 100 ml de solución.
 - a) El xilenol orange (XYL. OR): 76 mg
 - b) El amonio sulfato ferroso (AMN. SUL.): 98mg
 - c) Metanol anidro: 900 ml.
 - d) 2-2-Azobis amidinopropano (AAPH): 2nM (13,3mg) en 1 ml de agua bidestilada

Procedimiento:

Inicialmente se toman dos tubos para cada muestra (T_0 y T_1) de forma que añadimos a esos tubos 100 mg de proteínas. Al tubo T_0 se pone agua hasta 100 μ l / ml. Como al final tendremos 2ml adicionamos 200 μ l. Al tubo T_1 se añade el inductor AAPH 2,5nM en volumen equivalente a 20 μ l, completándose el volumen hasta 200 μ l con agua bidestilada. Los dos tubos deben ser incubados a 37°C durante 30 minutos.

Tras la incubación añadimos el reactivo de FOXC en volumen equivalente a 0,9 ml por ml de volumen final (1,8ml/2ml). Se esperan cerca de 75 minutos, procediéndose, enseguida, la lectura a 580nm en una cubeta previamente preparada con 3 ml del reactivo de FOX. Primeramente se le los tubos T_0 y después los tubos T_1 .

El tiempo de espera equivalente a los 75 minutos puede variar de acuerdo

con la temperatura del reactivo, de forma que se aconseja que los mismos estén en el frigorífico hasta en momento de su empleo. Otro detalle importante es que, después de someter el espectrofotómetro a un “cero” al aire, la lectura debe ser hecha frente a dos cubetas con los 3 ml de reactivo o al aire con lectura posterior de una cubeta conteniendo los tres ml frente al aire. En el segundo caso la absorbancia final cerca la diferencia entre la obtenida de leer la muestra y la de leer el reactivo.

Interpretación de los resultados

La conversión a concentración de hidroperóxidos de la muestra la podemos hacer mediante una curva patrón o empleando el coeficiente de extinción mediante la ley de Lambert.

La curva patrón es hecha con el tetra-butil-hidroperóxido (TBH), que se trata de un reactivo inestable y peligroso. Tal reactivo debe ser guardado en el frigorífico, pues un cambio brusco de temperatura podría hacer con que explotara. Los patrones para la curva patrón están establecidos en 0,2 μ M; 0,5 μ M; 1 μ M; 2 μ M; 5 μ M; siendo necesario, por tanto hacer las diluciones pertinentes.

Al final tenemos 3 resultados T_0 , T_1 y T_0-T_1 , de forma que:

- T_0 nos indica el nivel inicial de hidroperóxidos que hay en la muestra.
- T_1 nos indica cuanto se ha peroxidado la muestra tras la inducción de la reacción de oxidación.
- T_0-T_1 nos dice lo peroxidable que resulta la muestra, o sea, nos dice cual es el nivel de protección de las membranas delante de una situación de oxidación. Cuanto mayor la diferencia, menor será el grado de protección.

3.2.5 – Técnica de determinación del ácido tiobarbitúrico

Se utilizó una técnica de aproximación al contenido de malondialdehído (MDA) de las membranas mitocondriales de (ORRENIUS, 1977). Como mencionado antes en ese trabajo, el malondialdehído es el segmento final de la oxidación lipídica. De hecho, podemos afirmar que existe un orden secuencial de producción de sustancias derivadas de ese proceso. Tenemos, en orden de producción, los dienoconjugados, los hidroperóxidos, además de otros productos, hasta que se produce, por fin, el malonaldehído.

La velocidad de oxidación es medida pela velocidad con que alguno de esos 3 parámetros se produce. Indirectamente observamos que la vitamina E, la coenzima Q y la glutatión peroxidasa son antagonistas a ese proceso, significa que indirectamente esos parámetros pueden ser evaluados.

El MDA reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA) formando un pigmento rosa. Se trata de una reacción no tan específica y sensible, de forma que es necesario hacer una precipitación previa de las proteínas de la muestra. Se procesa, por tanto, la reacción de una molécula de MDA con dos moléculas de 2-tiobarbitúrico (TBA)

Reactivos

- e) TBA a 8%
- f) Ácido acético al 20% en agua

Preparación de Reactivos

- a) TBA a 8%

Pesar 0,8 g de ácido tiobarbitúrico, completando el volumen para 100 ml.

- b) Solución de ácido acético 20%

Para preparar esa solución basta añadir 20 ml de ácido acético 100% en un volumen de agua necesario para que se complete e100 ml.

Procedimiento:

Antes del procedimiento en sí, se debe proceder la determinación de la curva patrón al utilizarse concentraciones, en un número total de 10 muestras, de 0,2 hasta 5 nmol por tubo de reacción.

En un tubo de ensayo debemos añadir 0,4 ml de agua bidestilada, además de 0,1 o 100µl de muestra. Inmediatamente adicionamos 0,75 ml de TBA a 8% y 0,75 de ácido acético a 20%. Un tubo en blanco también debe ser preparado, de forma que contendrá las mismas cantidades de reactivos, con excepción de los 0,1 ml de muestra que son sustituidos por tampón.

Los tubos son entonces tapados, agitados y puestos en baño-maria por 15 minutos a 100 grados. Después del baño, enfriamos los tubos utilizando agua a temperatura ambiente, llevando los tubos, inmediatamente, a una centrifugación a 3000rpm por 15 minutos. Se procede la lectura a 532nm, apuntándose la absorbancia.

3.2.6 – Perfil lipídico de las membranas mitocondriales

La técnica de Lepage y Roy (1986) fue utilizada para la determinación del perfil lipídico de las membranas mitocondriales que permite que se haga a la vez la metilación y la transesterificación de las muestras.

Procedimiento

Se añade 2ml de una mezcla de metanol:benceno (4:1) y 200 µl de cloruro de acetilo en 100 µl de muestra. Se procede a una agitación y se lleva al baño-maria a 100°C durante una hora. Los tubos deben estar tapados para evitar la volatilización de su contenido. Se retiran los tubos y se espera su enfriamiento hasta que alcanzan la temperatura ambiente.

Se adicionan 2ml de solución de carbonato de potasio al 5% que actúa como un inhibidor, neutralizando la reacción, impidiendo que la reacción se siga procesando.

En seguida se separan las fases mediante a centrifugación a 2000 x G durante 15 minutos. La fracción bencénica (la superior) es extraída utilizándose una pipeta pasteur, y se trata de la fase que contiene la fracción lipídica.

Se procede una evaporación por corriente hidrógeno, de forma que la parte lipídica se queda atrapada en el fondo del tubo. Se resuspende en 50 μ l hexano y se efectúa una lectura en cromatógrafo a gas equipado con detector de ionización de llama. Se utilizó un cromatógrafo de gases modelo HP-5890 Series II (HEWLETT PACKARD, Palo alto, California; USA).

La duración del proceso es de 40 minutos y se observa la siguiente pendiente de temperatura:

- 5 minutos a 160°C;
- Incremento de temperatura de 6°C/minuto hasta llegar a los 195°C;
- 4°C/minuto hasta los 220°C;
- 2°C/minuto hasta los 230°C;
- 12 minuto en temperatura constante de 230°C;
- Y reducción en la escala de 14°C/minuto hasta los 160°C;

Para la separación se utilizó una columna SPTM 2330 F.S (SUPELCO INC. BELLEFONTE, Palo Alto, California, EUA) de 60 metros de longitud 32 mm de i.d., y un grosor de 20mm. Se realizó una determinación cualitativa de lípidos de membrana y se expresó los resultados como porcentaje en total de ácidos grasos detectados en el cromatograma.

3.2.7 – Extracción y determinación de ubiquinonas y vitamina E por HPLC.

La extracción de las ubiquinonas, en el caso de CoQ₉ y CoQ₁₀, se procesó utilizando una mezcla de proporción 60:40 de etanol éter de petróleo. Se siguió el método de Kroger (1978) para la extracción y el método de Battino y cols. de 2001 para su análisis en HPLC. Paralelamente se pudo identificar el α -tocoferol (vitamina E)

también presente en las mitocondrias

Reactivos:

A) Solución de metanol y éter de petróleo (60:40 v/v)

Preparo de reactivos:

A) Solución de metanol y éter de petróleo (60:40 v/v)

Esa solución es preparada añadiéndose 60 ml de metanol para cada 40 ml de éter de petróleo. El volumen a ser preparado sólo debe seguir tal proporción.

Procedimiento

A una muestra²⁸ corazón (0,5 mg de proteína). Se añade 2,5 ml de la mezcla de etanol:éter de petróleo. Sometemos todo el contenido al vórtex por 30 segundos. Sometemos el contenido a centrifugación a 1500rpm por 10 minutos a 4°C. Se utilizó una centrífuga de brazos oscilante BECKMAN GS-6R (BECKMAN, Fullerton, California, USA). La fase superior (éter) de la separación debe ser extraída y guardada a 4°C. Se añade al tubo primitivo 1ml de éter y se procede otra vez con la centrifugación y aislamiento. Se guarda las dos extracciones juntas a -20°C para posterior evaporación del éter y lectura en HPLC.

La técnica de HPLC que se utilizó fue en fase reversa con columna SPHERISORB S5 ODS I de 18x0,46cm (BECKMAN, Palo Alto, California, USA) con precolumna del mismo relleno que la principal. El instrumento se trata de un BECKMAN SYSTEM GOLD equipado con detector DIONE ARRAY 168 y un horno de columna (BECKMAN) que tienen el fin de mantener la temperatura durante el análisis a 22°C. La fase móvil corresponde al etanol para HPLC y agua bidestilada en proporción de 97:3. La velocidad de flujo empleada fue de 1ml/minuto recurriendo a un inyector automático WALTERSTM 717 PLUS AUTOSAMPLER (GENTECH

²⁸ Para hígado se utiliza el volumen equivalente a 1 mg de proteína; para músculo 0,8mg de proteína

SCIENTIFIC, Nueva York, USA).

La calibración para la extracción de CoQ y α -tocoferol se procesó utilizándose estándares puros de cada compuesto mediante la lectura en espectrofotómetro de las diluciones de esos patrones en solución etanólica y su posterior inyección de forma escalonada en el HPLC. Eso permitió la construcción de curvas patrón de las referentes moléculas.

3.2.8 – Determinación del daño oxidativo en ADN de linfocitos de sangre periférica.

Las cadenas de ADN dañadas fueron determinadas por la utilización de la técnica denominada comet. Para eso fue necesario promover al aislamiento de los linfocitos descrito en el tópico de procesamiento sanguíneo. Se suspendió los linfocitos en solución de agarosa 1% de bajo punto de fusión (LMP agarose) en PBS (pH:7,4). La muestra fue depositada en un portaobjetos impregnada con dicha solución previamente calentada a 37°C. La mezcla es llevada a 4°C durante 5 minutos, y los portas son colocados en seguida en una solución de lisis (2,5M NaCl; 100mM de EDTA; 10mM Tris a pH:10, Triton X 100 1% v/v) donde deben permanecer por 1 hora a la misma temperatura para que se proceda a la eliminación de las proteínas celulares. Los portas son llevados a un tanque de electroforesis, que debe ser realizada utilizándose 37V (1V/cm); 300 mA, 30 minutos; con tampón alcalino (0,3 M NaOH y 1mM de EDTA a pH:10) durante 40 minutos, también a 4°C para que se garantice una total eliminación de las membranas celulares y nucleares (tratamiento alcalino). Se utilizó un equipo CONSORT E802 ELECTROFORESIS POWER SUPPLY. Al finalizar la electroforesis se procede a un lavado, donde los portas son sometidas por 3 veces a los efectos de una solución neutralizante (0,4M Tris pH:7,5). Cada lavado dura 5 minutos. Los nucleóides coloreados con solución 1mg/ml de 4,6 diamino-2-phenylindole (DAPI) se examinaron en un microscopio de fluorescencia UV con filtro de excitación de 435nm de 400. El análisis se realizó con una cámara CCD empleando el software para imágenes KOMET 3.0 (KINETIC Imaging Ltd, Liverpool, U.K.). El porcentaje de ADN en las colas representa la medida de la fragmentación de ADN. La formación de colas de ADN similares a cometas se identifica en cinco formas arbitrarias (0,1,2,3 y 4) de acuerdo con

la extensión del daño al ADN representado por la cola en cometa. A cada se le asigna un valor de acuerdo con su clase, identificando 100 cometas por gel. Los resultados son valores que corresponden a una escala entre 0 (100% de cometas tipo 0 en el gel) hasta 400% (100% de cometas de la clase 4).

3.2.9 – Aislamiento y análisis mitocondrial por microscopía electrónica

Después de proceder a la extracción mitocondrial, 400 μ l de la muestra fueron incubados en tampón cacodilato (1%) y formaldehído (1,5%). Por un periodo de 2 horas a 4°C. Se procedió entonces a una serie de lavados (3 lavados exactamente) con tampón cacodilato. Se procede a otra incubación, pero de esta vez en solución de tetróxido osmiun por 60 minutos entre 0-4°C. Las muestras fueron deshidratadas en solución de etanol y embebidas en resina de epon. Se procede a una incubación que se procesa de un día para otro a 65°C en trozos con espesor de 70nm. Los trozos ultra finos son separados mediante a cortes con cuchillo con punta de diamante. Todas las sesiones son marcadas con acetato de uranil y fijadas con solución de citrato de plomo. Son visualizados por microscopía electrónica. Se utilizó un modelo CARL ZEISS (OBERKOCHEM, Alemania) EM10C de 40000X.

Los negativos fueron digitalizados y transformados en imágenes positiva. Se determinó el número de crestas mitocondriales, expresándose los resultados por μm^2 del área, perímetro y densidad de crestas mitocondriales. Se utilizó como software el NIH IMAGE J para la determinación del tamaño, contorno y circularidad de las mitocondrias (en escala).

Todos los reactivos utilizados proceden de Migma (ST. LOUIS, MO, USA) and Merck (DARMSTADT, ALEMANIA)

Análisis Estadístico

Los resultados representan la media y error estándar de un grupo representado por 8 animales. Previamente a la determinación estadística, todas las variables fueron comprobadas por siguiendo los principios de varianza utilizando los testes de KOLMOGOROV-SMIRNOFF y los testes de LEVENE respectivamente.

Cuando se encontraban variables que no seguían la normativa del análisis, se procedían a un transformación logarítmica y reanálisis. Las diferencias estadísticas siguieron el parámetro de ANOVA, donde se consideran significativamente diferentes a partir de $P < 0,05$. El análisis de las diferencias entre los grupos se produjo por comparación múltiple utilizando el test de corrección de BONFERRONI. Los datos fueron procesados utilizando el programa SSPS/PC statistical software (SSPS for Windows, SSPS INC. Chicago, Il. USA).

3.2.10 – Tratamiento estadístico de los resultados

Los valores encontrados fueron expresados considerando el valor medio encontrado en los grupos. Se consideró el error estándar de la media en cada análisis ($n=8$). Las determinaciones fueron hechas a través de la utilización del programa SPSS 11.0.1 compatible con Windows (SPSSinc. Chicago, Illinois, USA).

En un primer momento se procedió a la determinación de la normalidad, posteriormente estudiada por el método de KOLMOGOROV-SMIRNOV. Se utilizó el método de LEVENE para estudiar la homogeneidad de la varianza de las diferentes variables implicadas. En los casos donde las variable no seguían el criterio de normalidad, éstas fueron transformadas y reanalizadas.

Las diferencias entre los diferentes grupos ($P < 0,05$) fueron determinadas por un análisis de varianza (ANOVA) utilizando test post-hoc de comparación entre grupos. Se utilizó además un análisis factorial de dos vías (ANOVAS de dos vías) para determinar la interacción entre factores distintos, gráficamente retratadas, entre la relación de edad y tiempo y su dependencia e implicaciones conjuntas.

Capitulo 4- RESULTADOS

4.1- Resultados

4.1.1 Peso de las ratas

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística cuanto al peso. A los 24 meses tampoco se observaron diferencias significativas cuando comparamos el peso medio de los ejemplares de cada grupo. En otras palabras, entre los animales de una misma edad no se observaron diferencias significativas entre sus pesos. Sin embargo, cuando comparamos la variación de peso o masa corporal tomando en tiempo como parámetro observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados con el peso a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G; GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró con eso que el factor que condiciona la diferencia de peso es el tiempo. La dieta por si sola no influenció en ese efecto y tampoco la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

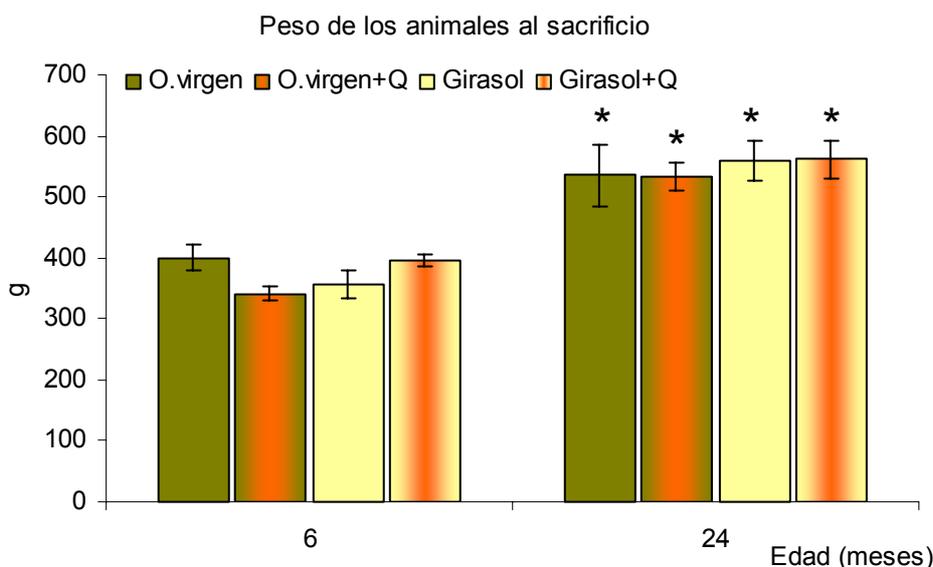


Figura 8 – Peso de las ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD:0,498; T:0,000; TDxT:0,624.

4.1.2 Peso del corazón al sacrificio

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística entre los grupos VQ y GQ. A los 24 meses no se observaron diferencias significativas cuando comparamos el peso medio del corazón entre los ejemplares de cada grupo. Cuando comparamos la variación de peso del corazón tomando en tiempo como parámetro observamos diferencia significativa a los 6 meses, si comparados con el peso a los 24 meses, en los grupos V; VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que el factor que condicionó la diferencia estadística de peso para el corazón fue solamente el tiempo. La dieta por si sola no influenció en ese efecto y tampoco la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

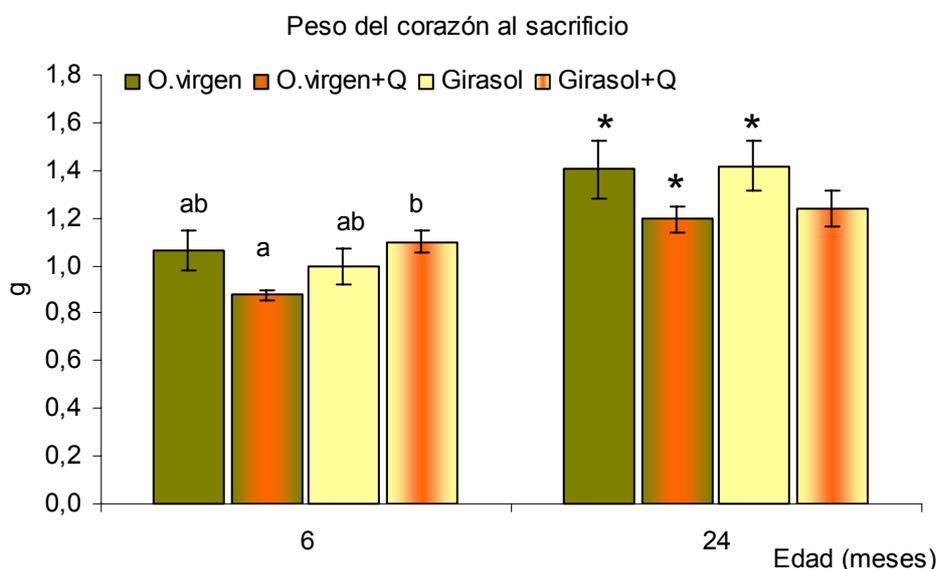


Figura 12 – Peso del corazón de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,056; T: 0,000; TDxT: 0,355.

4.2- Resultados en mitocondrias

4.2.1 Proteína mitocondrial de corazón

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística entre los grupos. A los 24 meses se observaron diferencias significativas cuando comparamos la concentración de proteína mitocondrial entre el grupo VQ y los demás grupos. Entre V; G; y GQ no hubo diferencia. Cuando comparamos la proteína mitocondrial del corazón tomando en tiempo como parámetro observamos diferencia significativa a los 6 meses, si comparados con el peso a los 24 meses, en los grupos VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que los factores que condicionaron la diferencia estadística de la concentración de proteína para el corazón fueron el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El factor tiempo no condicionó.

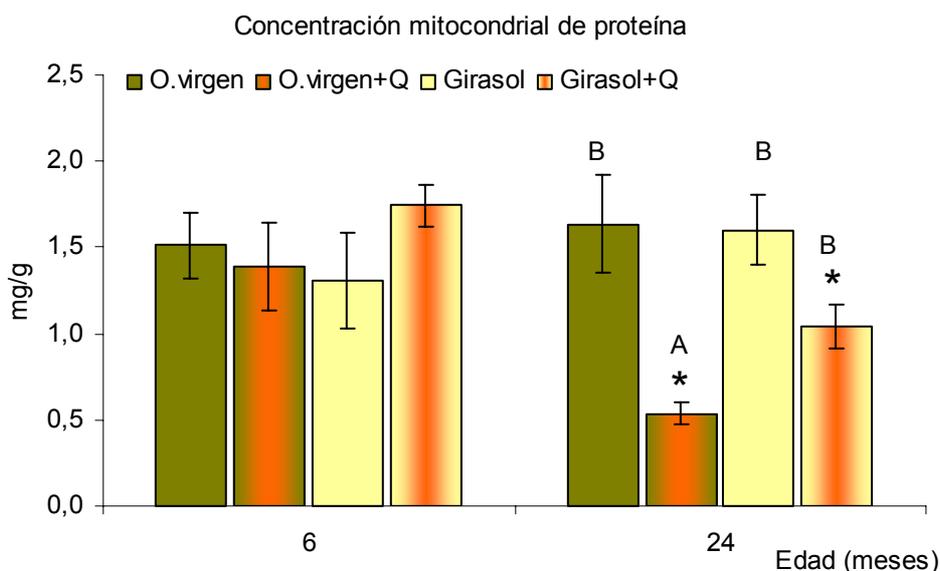


Figura 13 – proteína mitocondrial del corazón de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,020; T: 0,054; TDxT: 0,013.

4.2.2 Contenido basal de hidroperóxidos (T_0).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística cuanto al contenido basal de hidroperóxidos. A los 24 meses se observaron diferencias significativas cuando comparamos tal contenido entre el grupo VQ y todos los demás y entre GQ con los grupos VQ y G. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos VQ y G. El análisis de varianza de dos vías demostró que los tres factores condicionan el contenido basal de hidroperóxidos, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

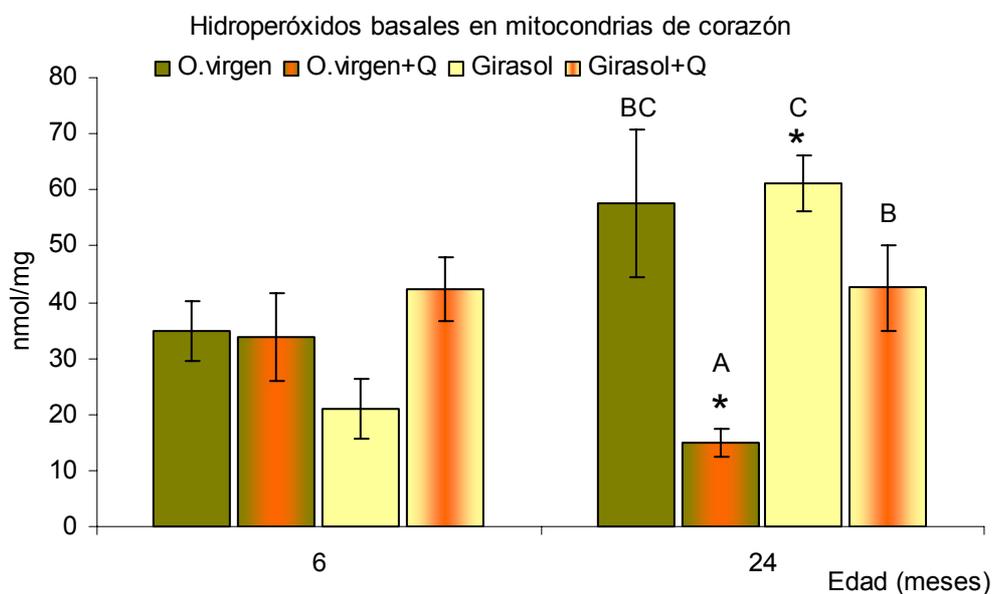


Figura 14 – Contenido basal de hidroperóxidos (T_0) en mitocondrias de corazón de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ_{10} , y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} ; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} . Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,002; T: 0,048; TDxT: 0,002.

4.2.3 Contenido inducido de hidroperóxidos (T₁).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística cuanto al contenido inducido de hidroperóxidos. A los 24 meses se observaron diferencias significativas cuando comparamos tal contenido entre el grupo VQ y todos los demás y entre GQ con los grupos VQ y G. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos VQ y G. El análisis de varianza de dos vías demostró que el factor que condicionó el contenido inducido de hidroperóxidos fue la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tratamiento dietético y el tiempo como factores aislados no influenciaron.

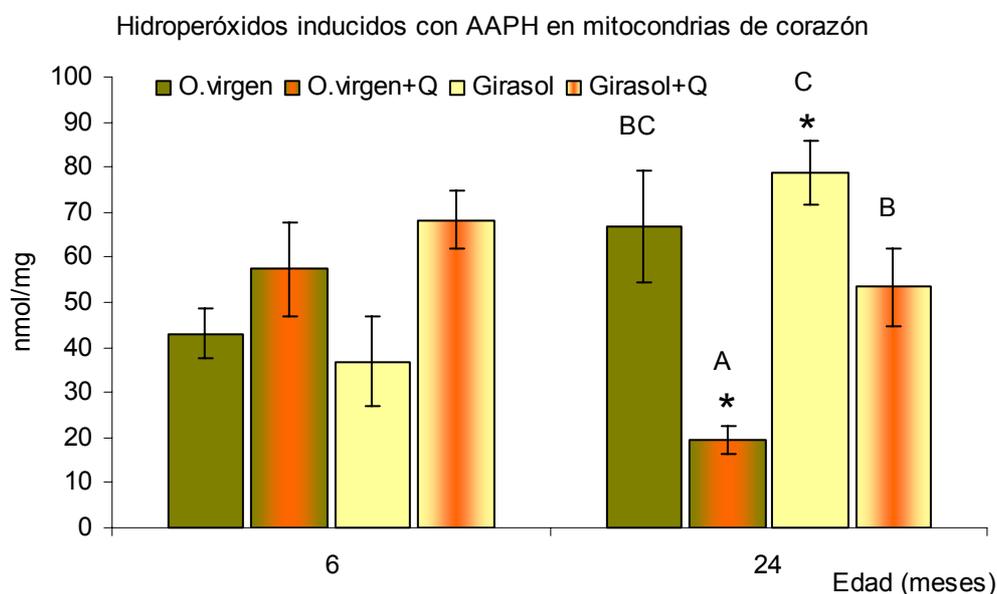


Figura 15 – Contenido inducido de hidroperóxidos (T₁) en mitocondrias de corazón de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,051; T: 0,610; TDxT: 000.

4.2.4 Susceptibilidad a la peroxidación en mitocondria de corazón (T₁-T₀).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la susceptibilidad a la peroxidación entre grupo V en comparación con los grupos VQ y GQ. A los 24 meses se observaron diferencias significativas cuando comparamos tal contenido entre el grupo VQ y G. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionan la susceptibilidad a la peroxidación, o sea, el tiempo y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tratamiento dietético como factor aislado no condiciona.

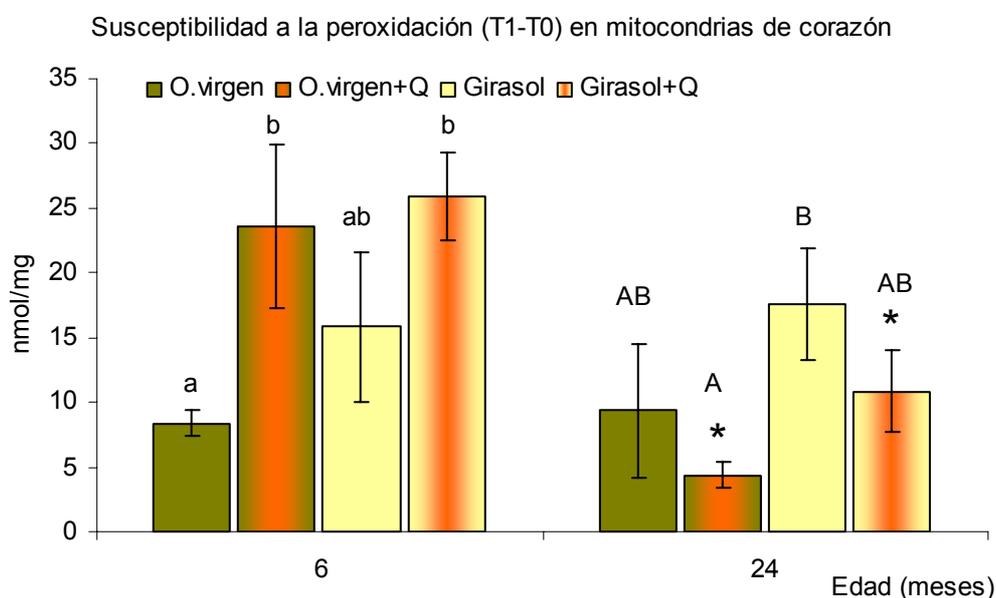


Figura 16 – Susceptibilidad a la peroxidación en mitocondria de corazón (T₁-T₀) de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,175; T: 0,017; TDxT: 0,039.

4.2.5 Susceptibilidad a la peroxidación en mitocondria de corazón (T₁:T₀).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la susceptibilidad a la peroxidación entre grupo V en comparación con los demás. A los 24 meses no se observaron diferencias significativas cuando comparamos tal contenido. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionan la susceptibilidad a la peroxidación, o sea, el tiempo y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tratamiento dietético como factor aislado no condicionó.

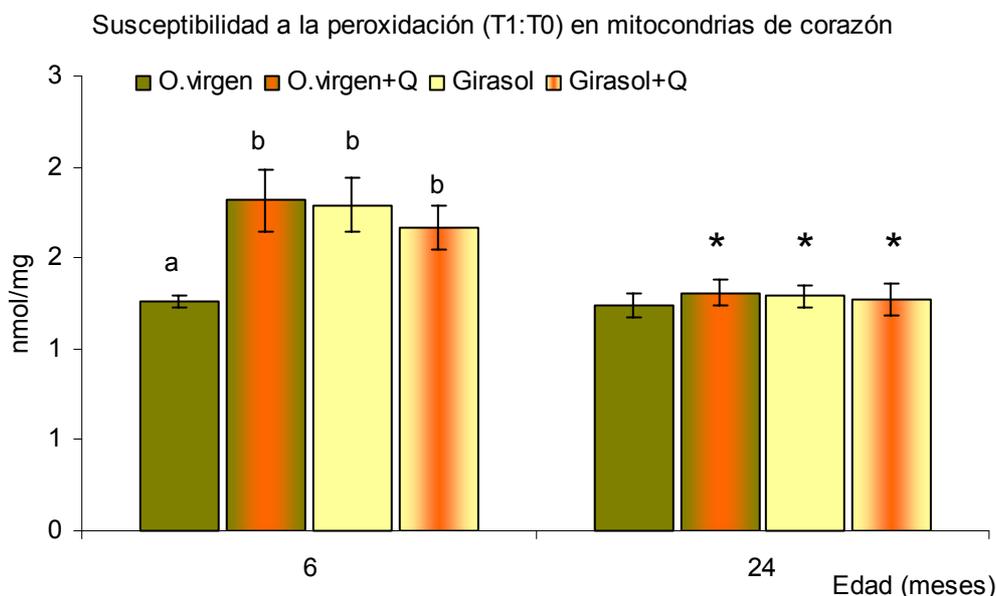


Figura 17 – Susceptibilidad a la peroxidación en mitocondria de corazón (T₁:T₀) de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,024; T: 0,000; TDxT: 0,095.

4.2.6 Contenido en sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística cuanto al contenido en sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico. A los 24 meses tampoco se observaron diferencias significativas cuando comparamos tal contenido. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que el factor que condicionó el contenido en sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico fue el tiempo. El tratamiento dietético como factor aislado y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo no condicionan el análisis de varianza.

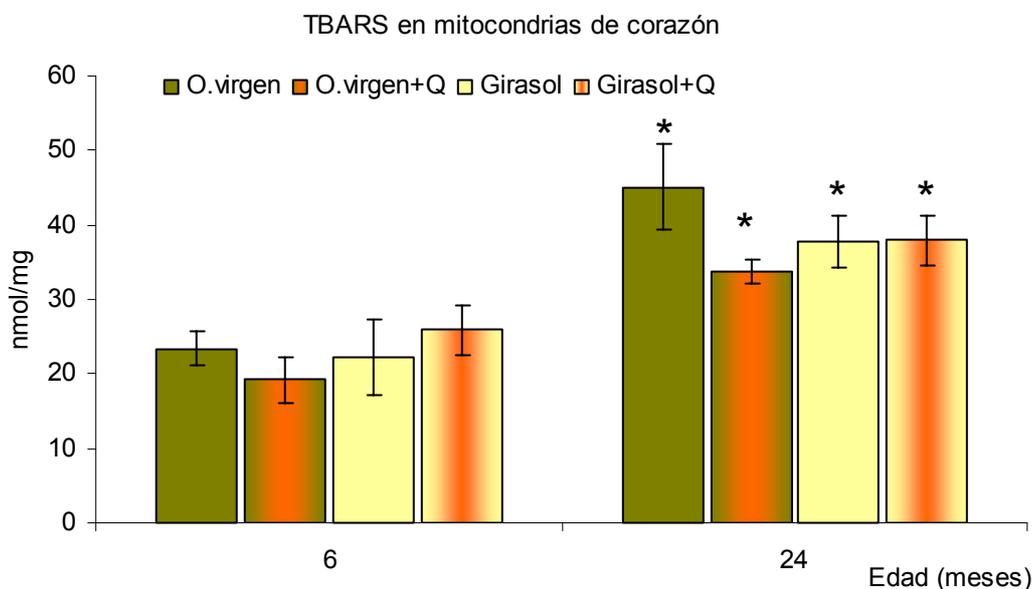


Figura 18 – TBARS en mitocondria de corazón de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,235; T: 0,000; TDxT: 0,432.

4.2.7 Concentración de α -tocoferol en mitocondrias de corazón.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística cuanto a la concentración de α -tocoferol en mitocondria de corazón. A los 24 meses se observó diferencias significativas cuando comparamos tal concentración entre V en comparación con VQ y GQ. También se observó diferencia entre G en comparación con VQ y GQ. Entre VQ y GQ no hubo diferencia. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos V; G y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron la concentración de α -tocoferol en mitocondrias de corazón, o sea, el tiempo y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tratamiento dietético por si solo no condicionó el análisis.

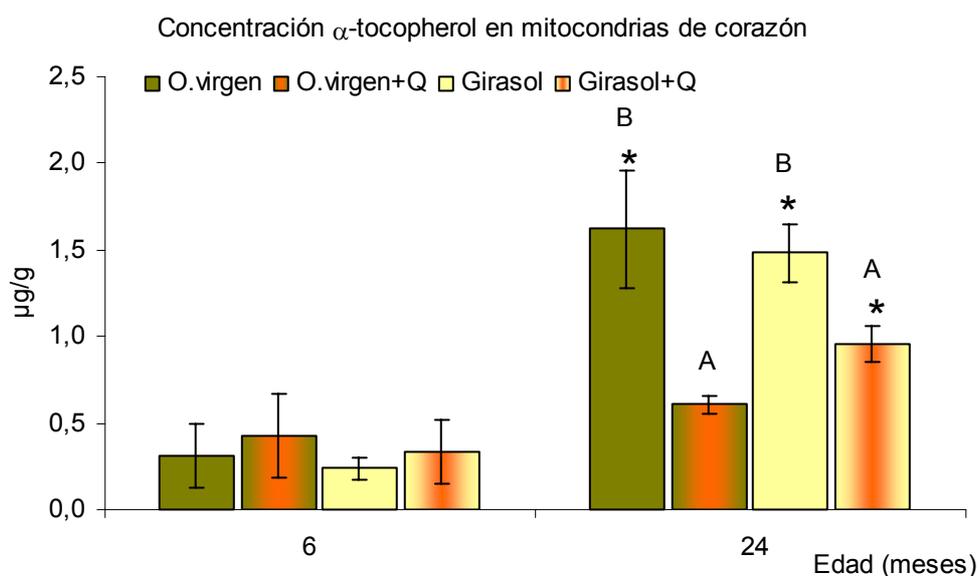


Figura 19 – Concentración de α -tocoferol en mitocondrias de corazón de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,052; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.2.8 Concentración de coenzima Q₉ en mitocondria de corazón

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística cuanto a la concentración de CoQ₉ en mitocondria de corazón. A los 24 meses se observó diferencias significativas cuando comparamos tal concentración entre V en comparación con VQ y GQ; además de diferencia significativa entre G en comparación con VQ y GQ. Entre V y G no hubo diferencia significativa. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la concentración de CoQ₉ en mitocondria de corazón, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

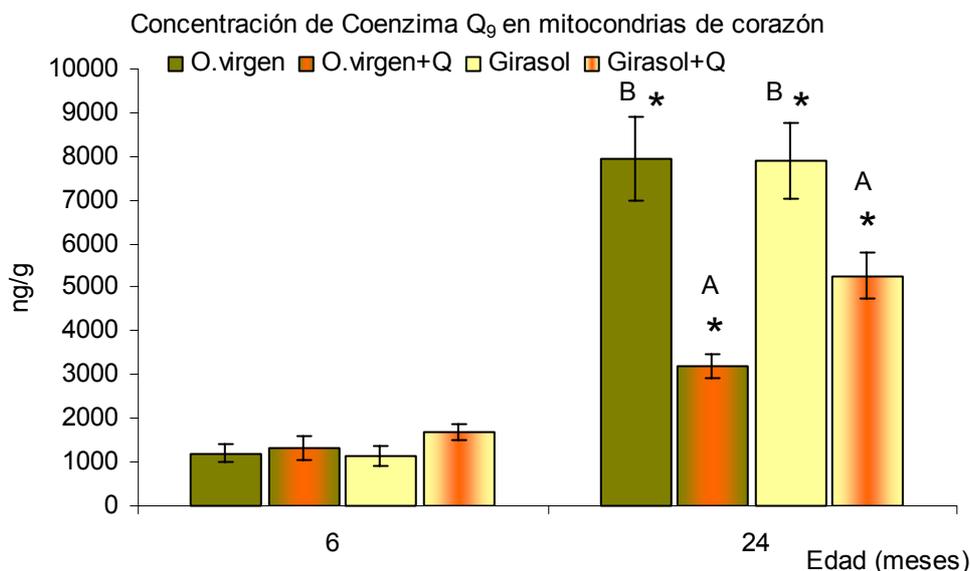


Figura 20 – Concentración de CoQ₉ en mitocondria de corazón de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.2.9 Concentración de coenzima Q₁₀ en mitocondria de corazón

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística cuanto a la concentración de CoQ₁₀ en mitocondria de corazón. A los 24 meses se observó diferencias significativas cuando comparamos tal concentración entre V en comparación con VQ y GQ; además de diferencia significativa entre G en comparación con VQ y GQ. Entre V y G no hubo diferencia significativa. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la concentración de CoQ₁₀ en mitocondria de corazón, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

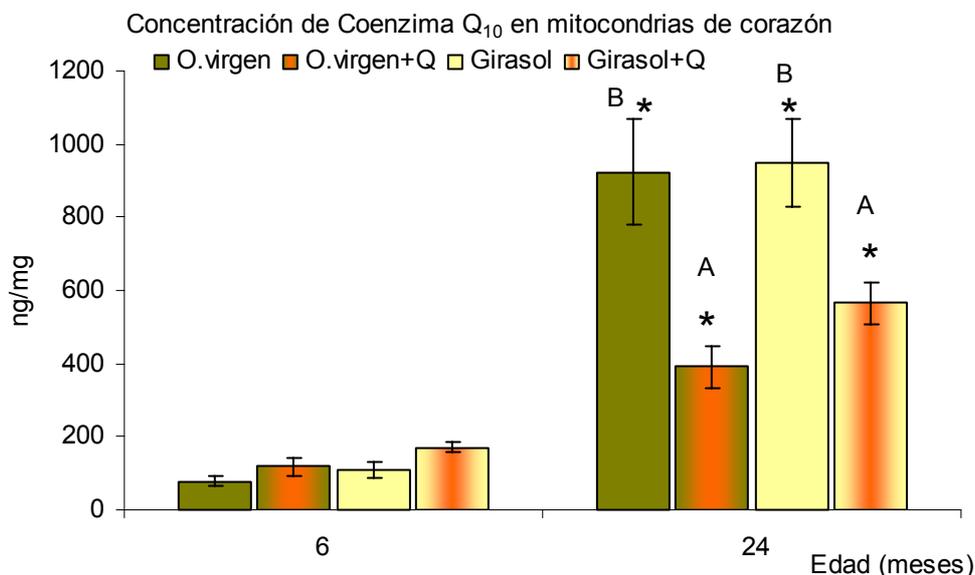


Figura 21 – Concentración de CoQ₁₀ en mitocondria de corazón de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencias estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.2.10 Relación mitocondrial de corazón entre coenzima Q₉:coenzima Q₁₀.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la relación mitocondrial entre CoQ₉:CoQ₁₀ entre el grupo V en comparación con todos los demás (VQ; GQ y GQ). Entre VQ; G y GQ no hay diferencia. A los 24 meses no se observó diferencias significativas entre ningún grupo. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos V; VQ y G. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la relación mitocondrial entre CoQ₉:CoQ₁₀, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

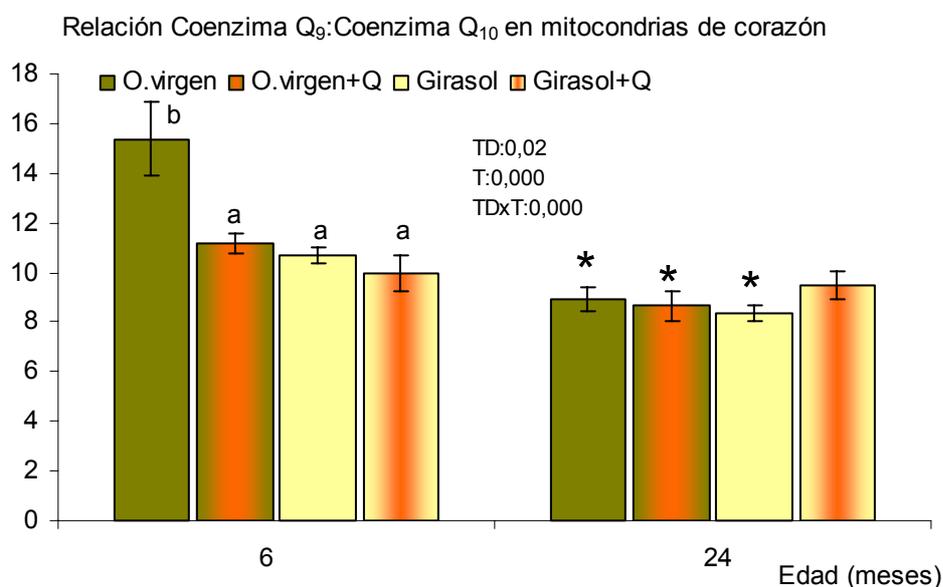


Figura 22 – Relación mitocondrial entre CoQ₉:CoQ₁₀ en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,020; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.2.11 Concentración mitocondrial de coenzima Q₉₊₁₀.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística cuanto a la concentración mitocondrial de CoQ₉₊₁₀ entre los grupos. A los 24 meses se observó diferencias entre los grupos VQ y todos los demás (V; G y GQ). Además, el grupo GQ también presenta diferencia estadística en relación a todos los grupos (V; VQ; G). Los grupos G y virgen no presentaron diferencias entre si. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la concentración plasmática de CoQ₉₊₁₀, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

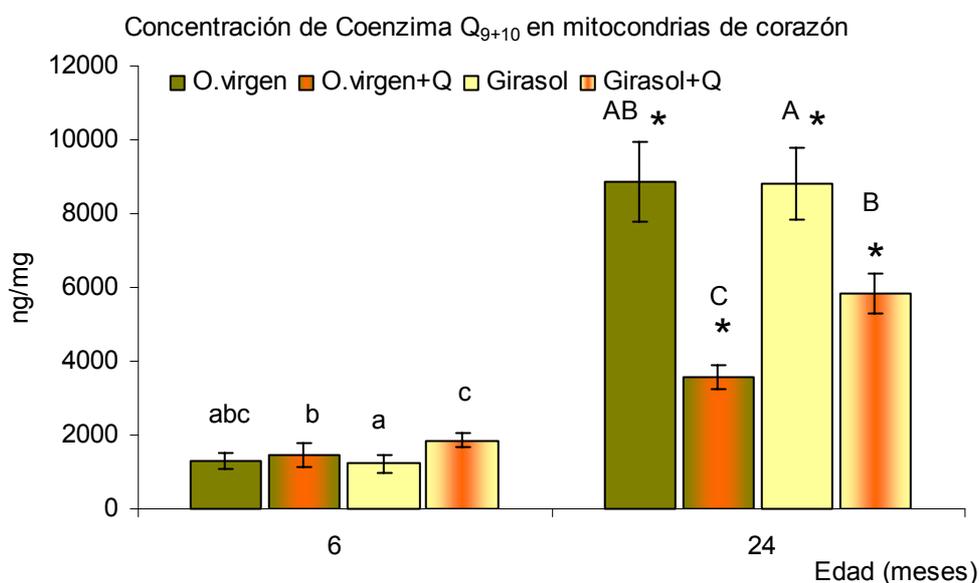


Figura 23 – Concentración mitocondrial de CoQ₉₊₁₀ en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.2.12 Contenido relativo en C₁₂.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia significativa cuanto al contenido relativo en C₁₂ entre el grupo G y GQ. Los demás grupos no presentaron diferencia significativa entre si. A los 24 meses no se observó diferencias significativas entre ningún grupo. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron el contenido relativo en C₁₂, o sea, el tiempo y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tratamiento dietético aislado no condicionó

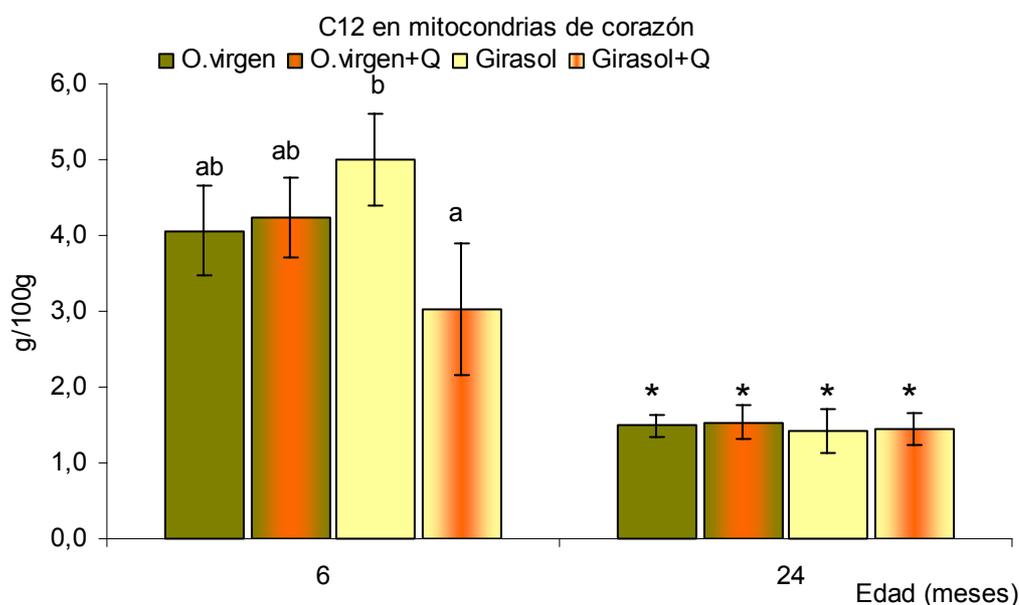


Figura 24 – Contenido relativo en C₁₂ en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,567; T: 0,000; TDxT: 0,016.

4.2.13 Contenido relativo en C₁₄ (ácido mirístico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia significativa cuanto al contenido relativo en C₁₂ entre el grupo G y GQ. Los demás grupos no presentaron diferencia significativa entre si. A los 24 meses no se observó diferencias significativas entre ningún grupo. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron el contenido relativo en C₁₄, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

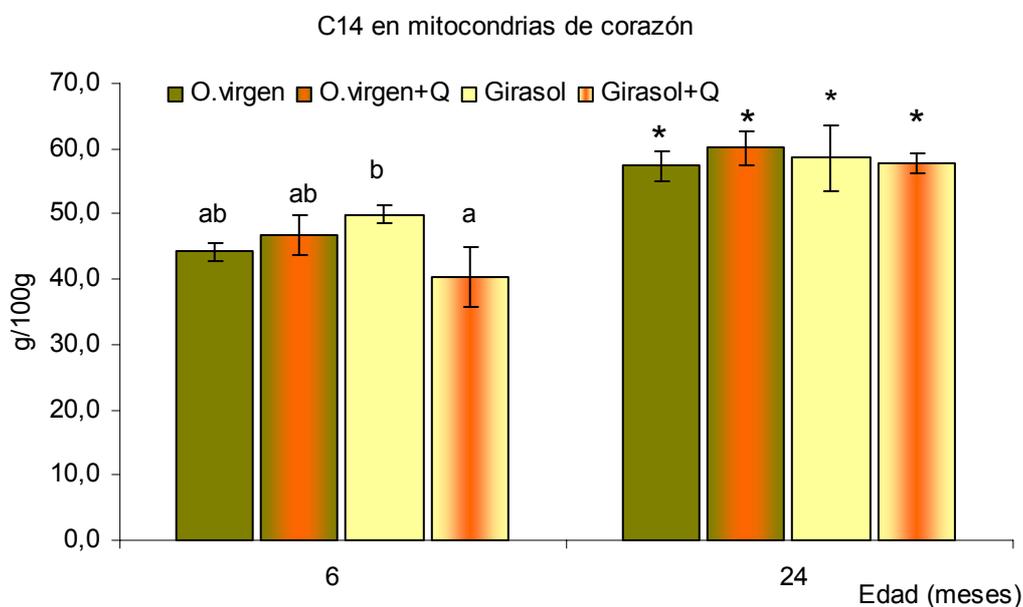


Figura 25 – Contenido relativo en C₁₄ (ácido mirístico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,003; T: 0,002; TDxT: 0,000.

4.2.14 Contenido relativo en C₁₆ (ácido palmítico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C₁₆ entre el grupo G en comparación con todos los demás (VQ; V y GQ). Entre los demás grupos entre si no se observa tal diferencia. A los 24 meses no se observó diferencias significativas entre ningún grupo. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos V; VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron el contenido relativo en C₁₆, o sea, el tiempo y el tratamiento dietético. La interacción entre tratamiento dietético y tiempo no condicionó.

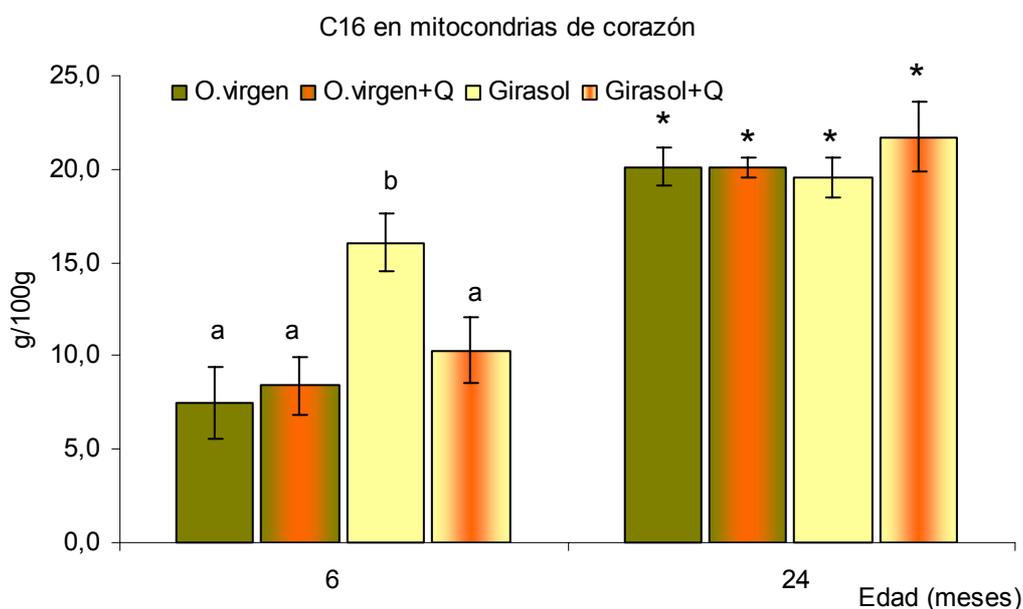


Figura 26 – Contenido relativo en C₁₆ (ácido palmítico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,001; T: 0,000; TDxT: 0,443.

4.2.15 Contenido relativo en C₁₈ (ácido esteárico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C₁₈ entre el grupo G en comparación con los grupos V y GQ. El grupo VQ no presentó diferencia significativa con ningún grupo. Entre VQ y G no hay diferencia y entre VQ y GQ tampoco. A los 24 meses no se observó diferencias significativas entre ningún grupo. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y G). El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron el contenido relativo en C₁₈, o sea, el tiempo y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tratamiento dietético aislado no condicionó

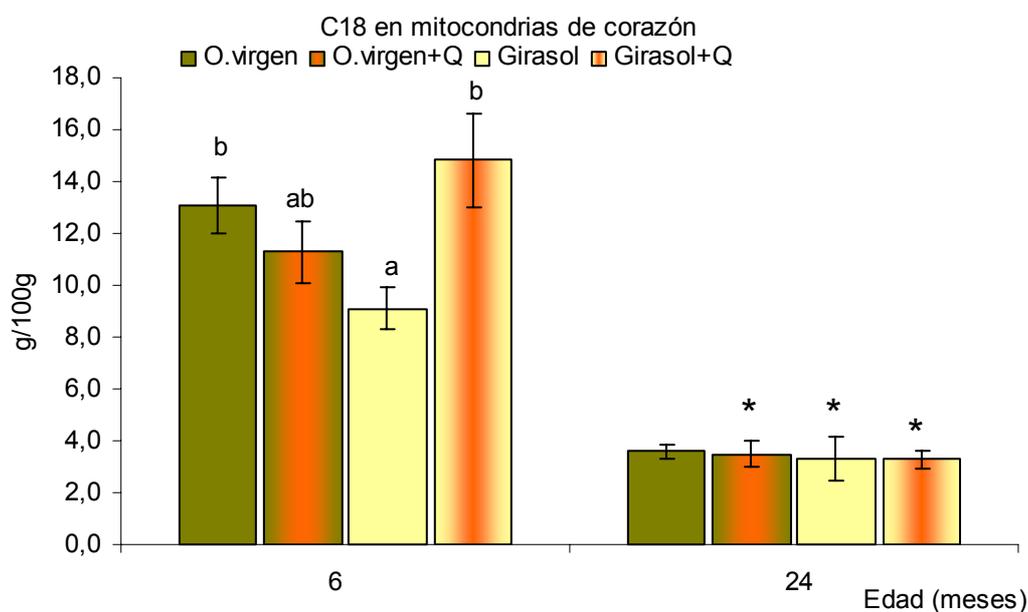


Figura 27 – Contenido relativo en C₁₈ (ácido esteárico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,215; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.2.16 Contenido relativo en C_{18:1n-9} (ácido oleico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C_{18:1n-9} entre el grupo V en comparación con G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. Entre V y VQ no hay diferencia, tampoco entre G y GQ. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre el grupo V y todos los demás (VQ, G y GQ). Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en el grupo VQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron el contenido relativo en C_{18:1n-9}, o sea, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El factor tiempo se tomado de forma aislada no condicionó.

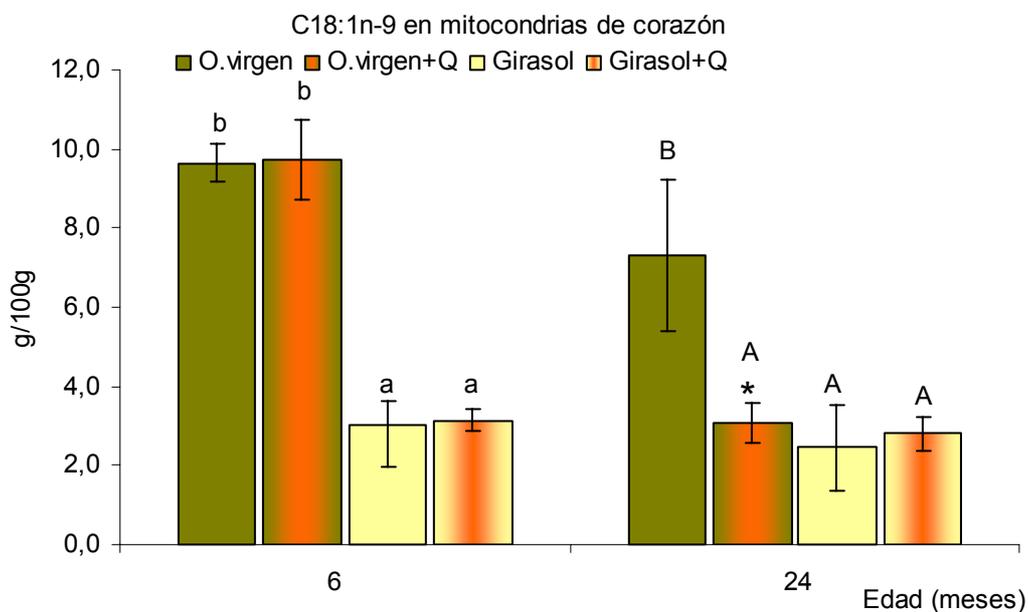


Figura 28 – Contenido relativo en C_{18:1n-9} (ácido oleico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencias estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,052; TDxT: 0,000.

4.2.17 Contenido relativo en C_{18:2n-6} (ácido linoleico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C_{18:2n-6} entre el grupo GQ en comparación con todos los demás (V; VQ y GQ). Entre los demás grupos entre si no hay diferencia significativa. A los 24 meses entre el grupo V en comparación con G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. Entre V y VQ no hay diferencia, tampoco entre G y GQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos V; VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron el contenido relativo en C_{18:2n-6}, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

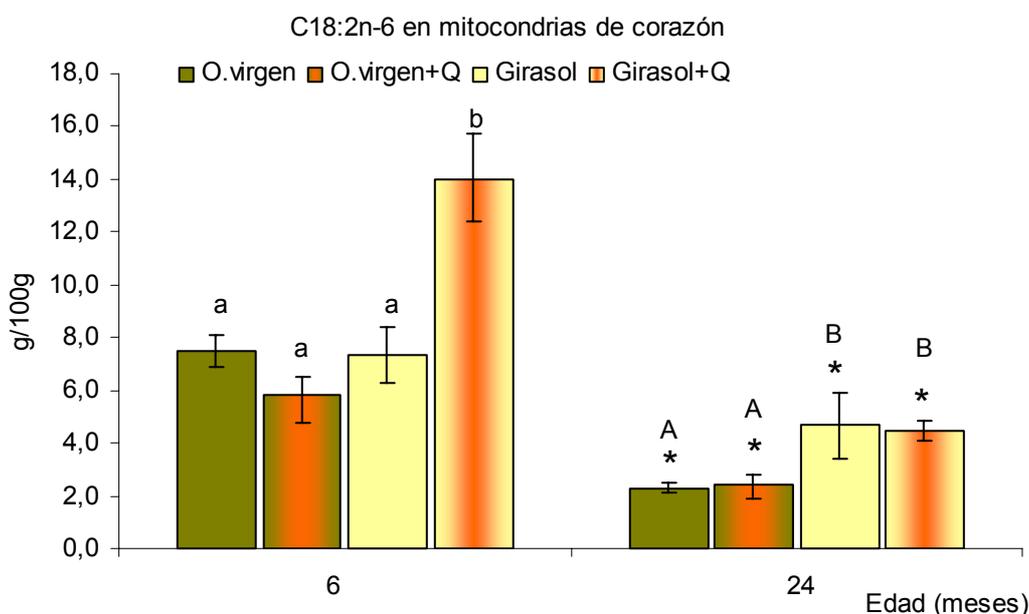


Figura 29 – Contenido relativo en C_{18:2n-6} (ácido linoleico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.2.18 Contenido relativo en C_{20:4n-6} (eicosatetraenoico o ácido araquidónico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C_{20:4n-6} entre el grupo G en comparación con todos los demás (V; VQ y GQ), además de diferencia entre GQ y en comparación con todos los demás V; VQ y G. Entre V y VQ no hay diferencia significativa. A los 24 meses no se observó diferencias significativas entre ningún grupo. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron el contenido relativo en C_{20:4n-6}, o sea, el tiempo y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tratamiento dietético como factor aislado no condicionó.

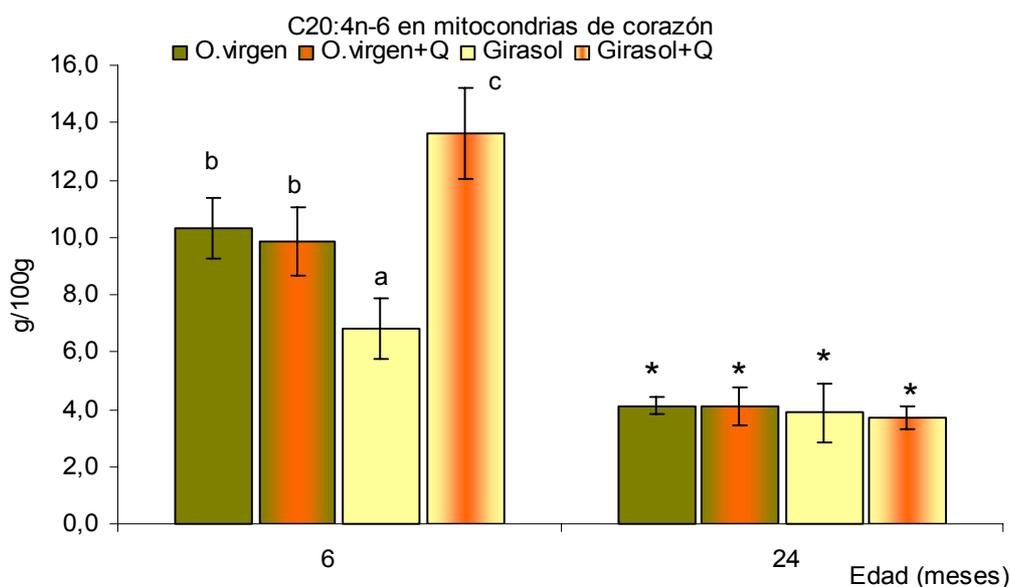


Figura 30 – Contenido relativo en C_{20:4n-6} (eicosatetraenoico o ácido araquidónico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,124; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.2.19 Contenido relativo en $C_{20:5n-3}$ (eicosapentaenico o EPA).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en $C_{20:5n-3}$ en ningún grupo. A los 24 meses observamos diferencias significativas entre el grupo VQ y todos lo demás (V; G y GQ) y entre el grupo V y todos los demás grupos (VQ; G y GQ). Entre G y GQ no hubo diferencia significativa. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron el contenido relativo en $C_{20:5n-3}$, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

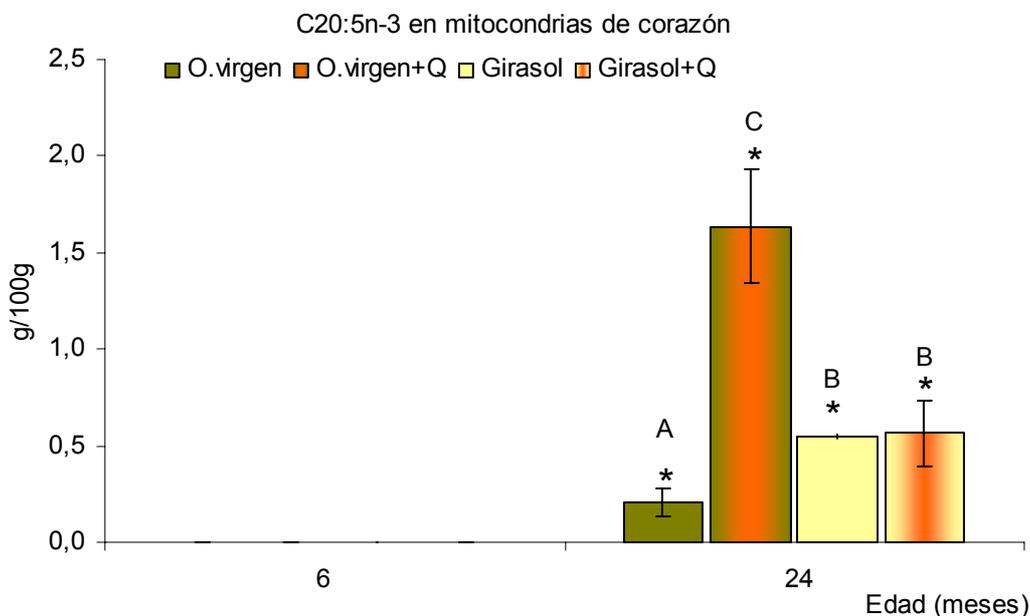


Figura 31 – Contenido relativo en $C_{20:5n-3}$ (eicosapentaenico o EPA) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ_{10} , y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} ; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} . Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.2.20 Contenido relativo en $C_{22:6n-3}$ (docosahexaenoico o DHA).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en $C_{22:6n-3}$ entre el grupo V en comparación con G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. Entre V y VQ no hay diferencia, tampoco entre G y GQ. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre el grupo VQ y los grupos V y G. Entre los demás grupos no hay diferencia entre si. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos V; G y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos los factores condicionaron el contenido relativo en $C_{22:6n-3}$, o sea, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tiempo cuando tomado de forma aislada no condicionó.

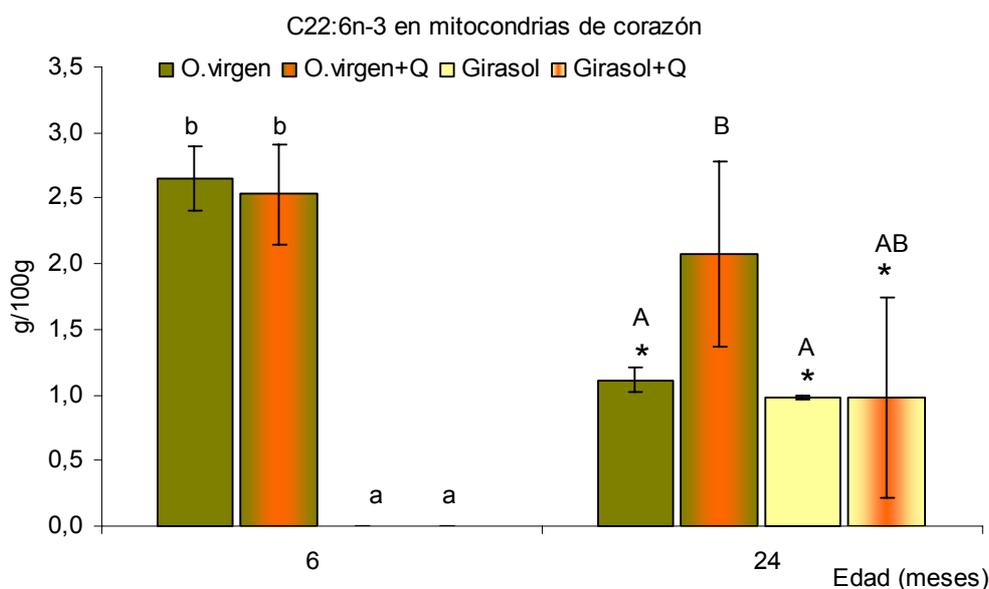


Figura 32 – Contenido relativo en $C_{22:6n-3}$ (docosahexaenoico o DHA) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ_{10} , y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} ; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} . Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,395; TDxT: 0,024.

4.2.21 Suma de ácidos grasos saturados totales (SFA).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la suma de ácidos grasos saturados totales entre el grupo G en comparación con todos los demás (V; VQ; y GQ), Entre los demás grupos no hay diferencia significativa. A los 24 meses no se observó diferencias significativas entre ningún grupo. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos V; VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron la suma de ácidos grasos saturados totales, o sea, el tiempo, y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tratamiento dietético de forma aislada no condicionó.

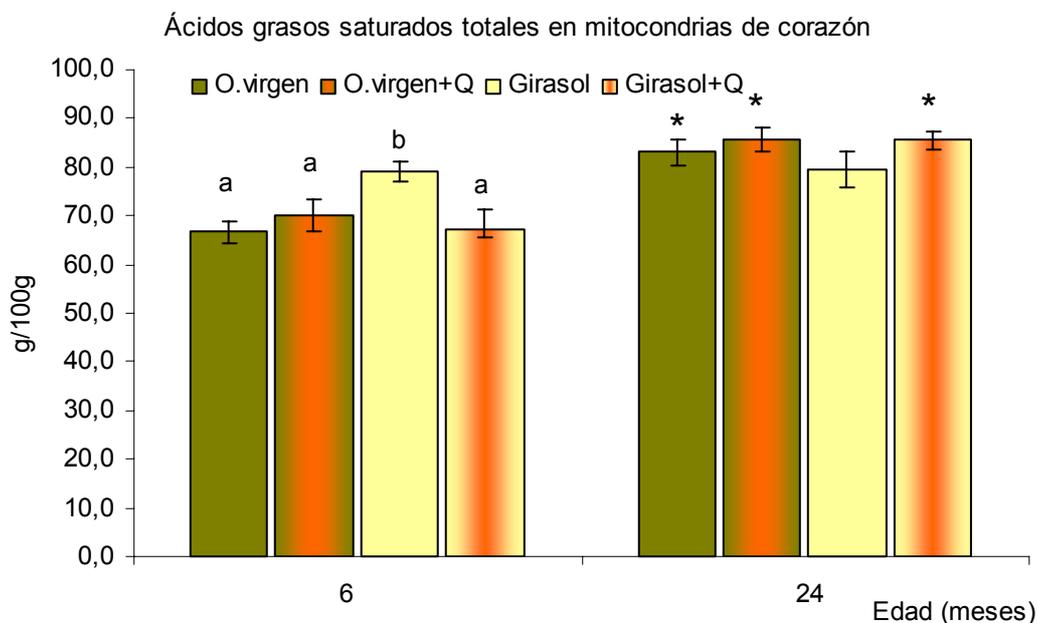


Figura 33 – Suma de ácidos grasos saturados totales (SFA) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,464; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.2.22 Suma de ácidos grasos monoinsaturados totales (AGM).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la suma de ácidos grasos monoinsaturados totales entre el grupo V en comparación con los grupos G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. Entre V y VQ; y entre g y GQ no hay diferencia significativa. A los 24 meses se observó diferencias significativas entre el grupo V y todos los demás (VQ, G y GQ). Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, no observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron significativamente la suma de ácidos grasos monoinsaturados totales, o sea, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tiempo como factor aislado no influyó.

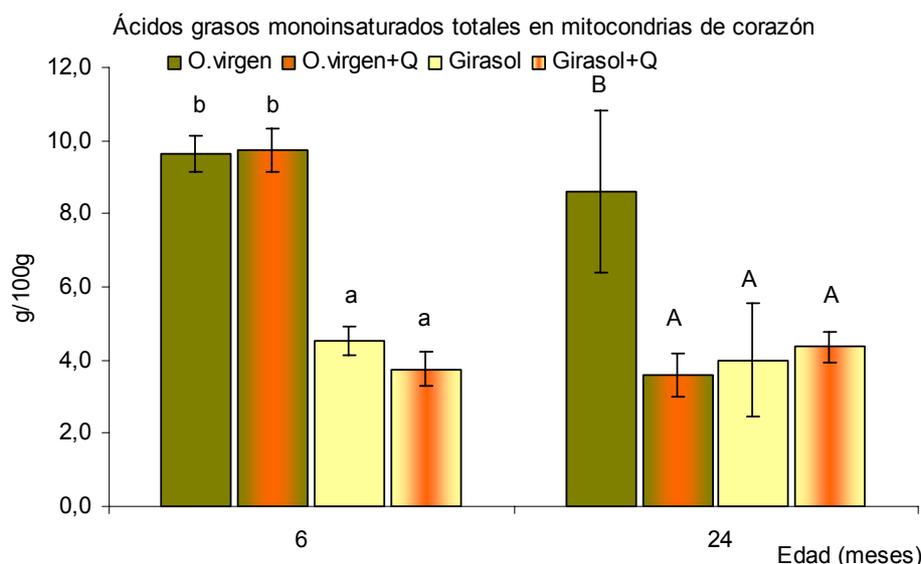


Figura 34 – Suma de ácidos grasos monoinsaturados totales (AGM) en sangre periférica de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,485; TDxT: 0,000.

4.2.23 Suma de ácidos grasos poliinsaturados totales (AGP).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la suma de ácidos grasos poliinsaturados totales entre el grupo GQ en comparación con todos los demás (V; VQ y G), además de diferencia entre VQ y en comparación con G. Entre VQ y V no hay diferencia y entre V y G tampoco. A los 24 meses se observó diferencias significativas entre el grupo G y GQ; además de G y V. VQ no presentó diferencia significativa con ningún grupo. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos V; VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron la suma de ácidos grasos poliinsaturados totales, o sea, el tiempo y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tratamiento dietético como factor aislado no influyó.

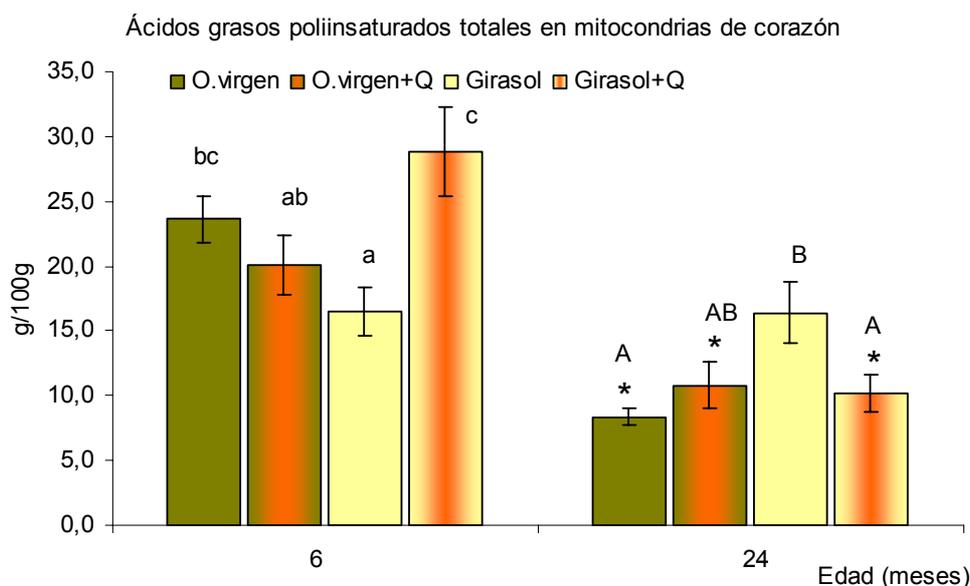


Figura 35 – Suma de ácidos grasos poliinsaturados totales (AGP) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,061.

4.2.24 Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 entre el grupo GQ en comparación con todos los demás (V; VQ y G). A los 24 meses se observó diferencias significativas entre el grupo G y todos los demás (V; VQ y GQ) y entre el grupos V y GQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos V; VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

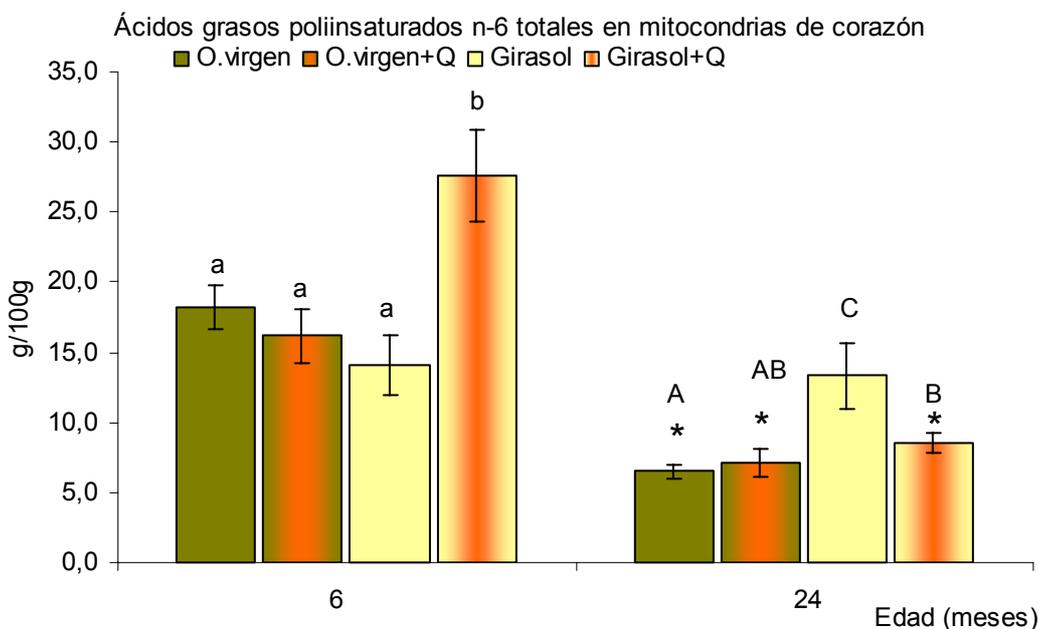


Figura 36 – Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.2.25 Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 entre el grupo V en comparación con G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. Entre V y VQ; además de G y GQ no hay diferencia significativa. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre el grupo VQ y todos los demás (V; G y GQ). Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, no observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron la suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3, o sea, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tiempo no condicionó tal diferencia.

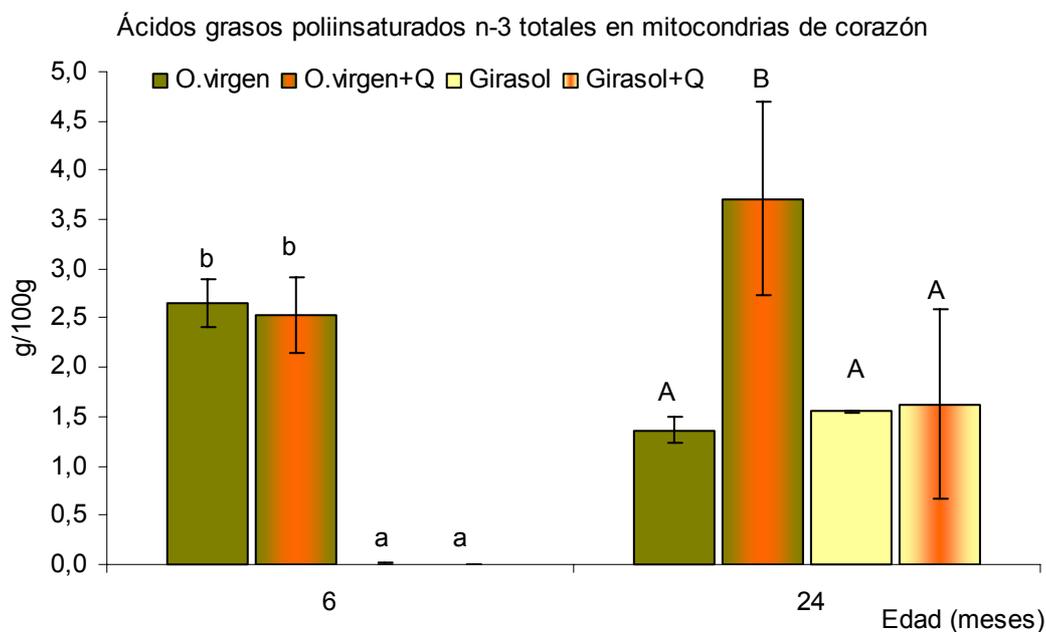


Figura 37 – Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 en sangre periférica de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,294; TDxT: 0,028.

4.2.26 Relación entre el contenido relativo de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados (AGM/AGP)

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la relación entre el contenido relativo de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados entre el grupo GQ en comparación con todos los demás (V; VQ y G). A los 24 meses se observó diferencias significativas entre el grupo V y todos los demás (VQ, G y GQ). También observamos diferencia entre GQ y G; además de GQ y VQ. Entre VQ y G no hay diferencia. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la relación entre el contenido relativo de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

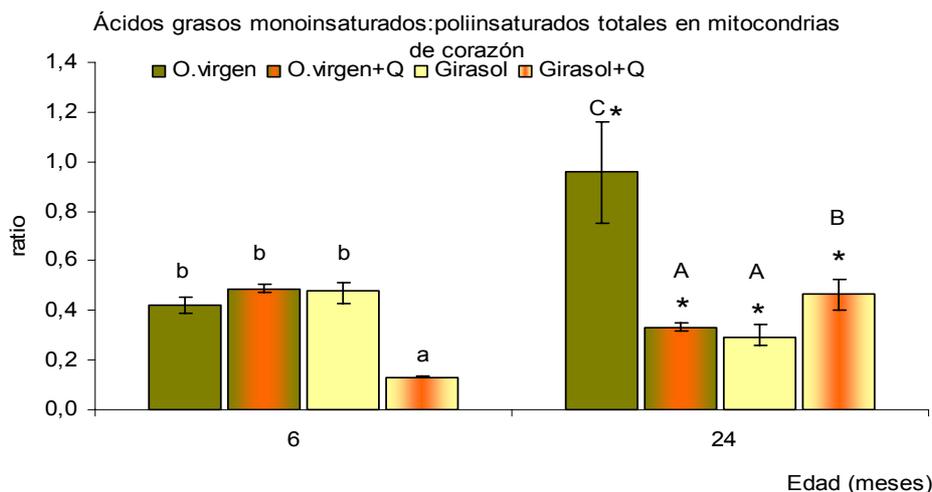


Figura 38 – Relación entre el contenido relativo de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados (AGM/AGP) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,001; TDxT: 0,001.

4.2.27 Relación entre el contenido relativo de ácido oleico y linoleico.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la relación entre el contenido relativo de ácido oleico y linoleico entre todos los grupos entre si (V; VQ; G y GQ). A los 24 meses se observó diferencias significativas entre V y todos los demás (VQ; G y GQ) y entre VQ y todos los demás (V; G y GQ). Entre G y GQ no hay diferencia significativa. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la relación entre el contenido relativo de ácido oleico y linoleico, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

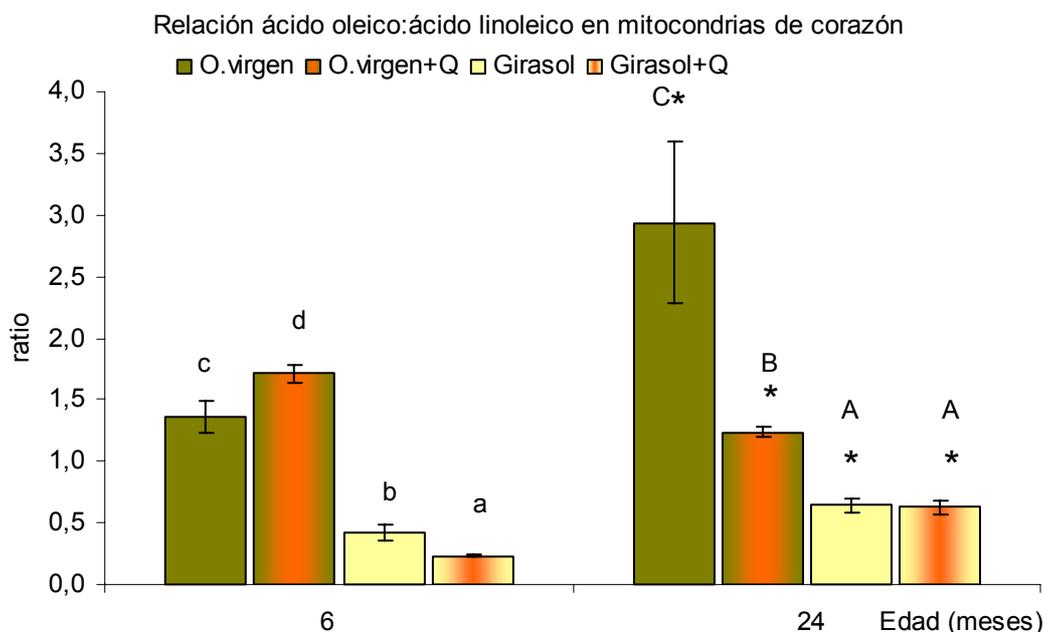


Figura 39 – Relación entre el contenido relativo de ácido oleico y linoleico en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,026; TDxT: 0,001.

4.2.28 Área de las mitocondrias de corazón por microscopía electrónica

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al área de las mitocondrias de corazón entre el grupo VQ y todos los demás (V; G y GQ). A los 24 meses se observó diferencias significativas entre V y VQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos G y GQ.

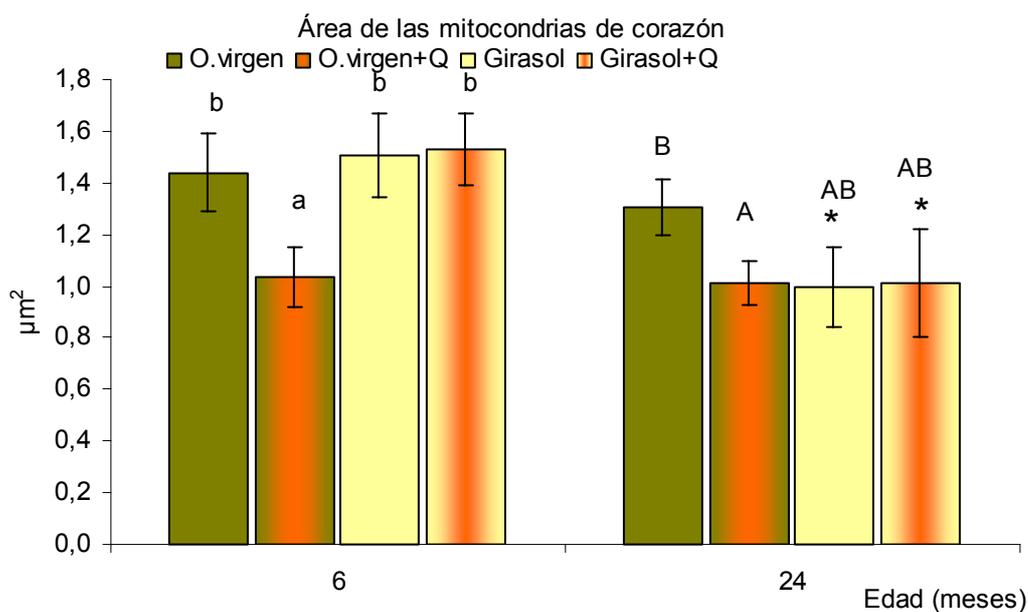


Figura 39 – Área de las mitocondrias de corazón por microscopía electrónica en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$).

4.2.29 Perímetro de las mitocondrias de corazón por microscopía electrónica

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al perímetro de las mitocondrias de corazón entre el grupo V y VQ. Se observó diferencias significativas entre VQ y GQ. Entre V; G y GQ no hubo diferencia. A los 24 meses se observó diferencias significativas entre V y VQ. Entre V y G también hubo diferencia. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en el grupo G.

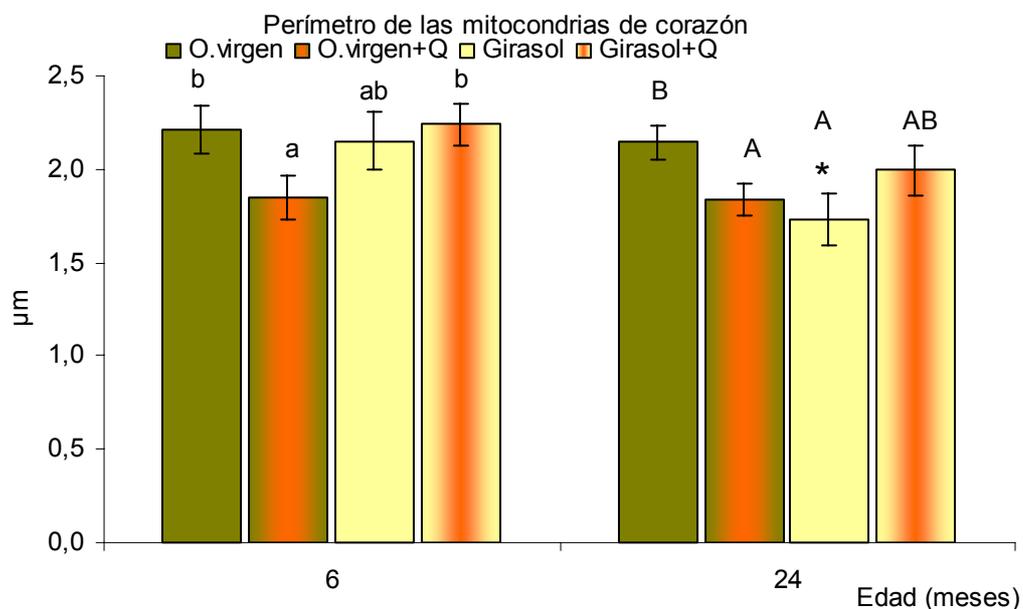


Figura 40 – Perímetro de las mitocondrias de corazón por microscopía electrónica en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$).

4.2.30 Densidad de las crestas de las mitocondrias de corazón por microscopía electrónica

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la densidad de las crestas de las mitocondrias de corazón entre el grupo V en comparación con G y GQ, además de diferencia entre el grupo VQ en comparación con G y GQ. A los 24 meses se observó diferencias significativas entre el grupo VQ en comparación con G y GQ, además de diferencia entre el grupo V y G. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos VQ; G y GQ.

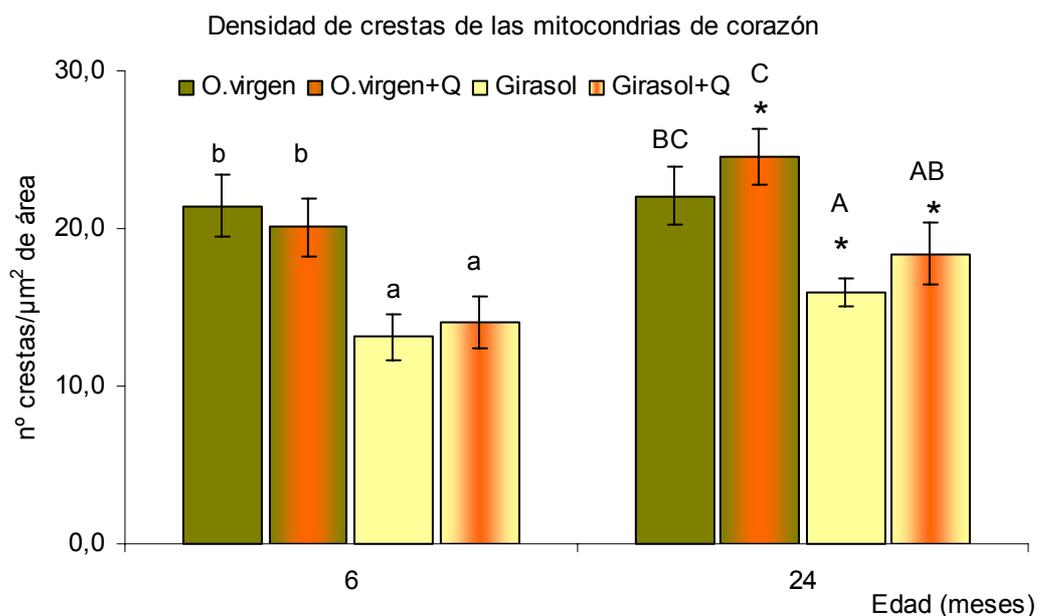


Figura 41 – Densidad de las mitocondrias de corazón por microscopía electrónica en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$).

4.3- Resultados en plasma

4.3.1 Concentración plasmática de Retinol.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística cuanto a la concentración plasmática de retinol. A los 24 meses se observó diferencias significativas cuando comparamos tal concentración entre V y todos los demás grupos y entre VQ y todos los demás. Entre G y GQ no hubo diferencia. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la concentración plasmática de retinol, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

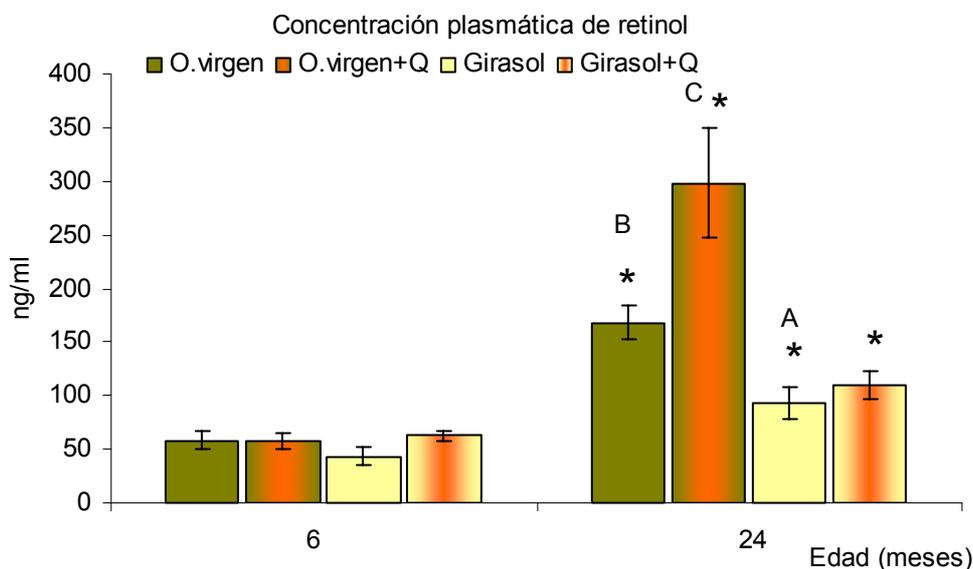


Figura 42 – Concentración plasmática de retinol de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.2 Concentración plasmática de α -tocoferol.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses no observamos diferencia estadística cuanto a la concentración plasmática de α -tocoferol. A los 24 meses se observó diferencias significativas cuando comparamos tal concentración entre VQ y todos los demás. Entre V; G y GQ no hubo diferencia. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la concentración plasmática de α -tocoferol, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

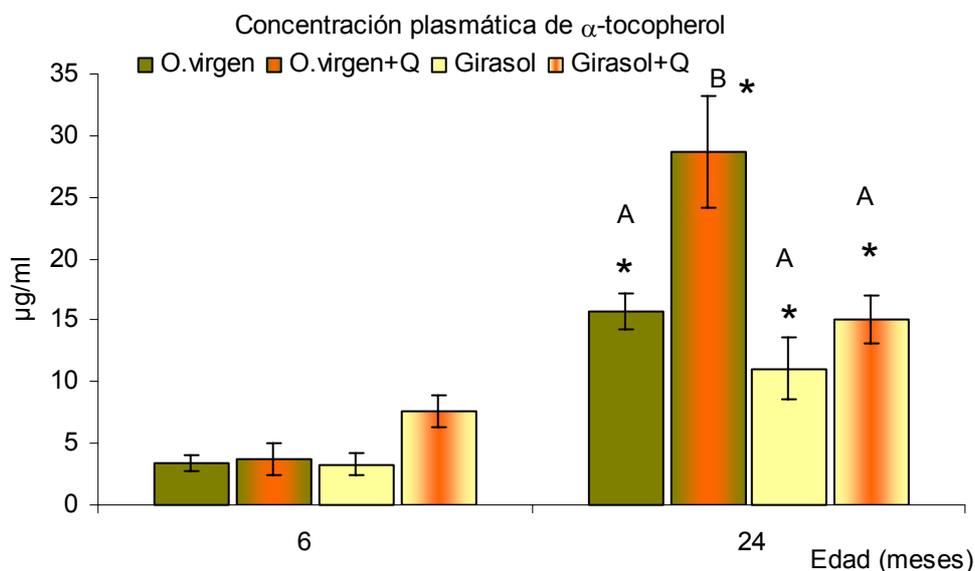


Figura 43 – Concentración plasmática de α -tocoferol de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,002; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.3 Concentración plasmática de coenzima Q₉.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la concentración plasmática de CoQ₉ entre el grupo G en comparación con los grupos VQ y GQ. A los 24 meses se observó diferencias significativas cuando comparamos tal concentración entre V y VQ; además de diferencia significativa entre VQ, G y GQ entre si. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la concentración plasmática de CoQ₉, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

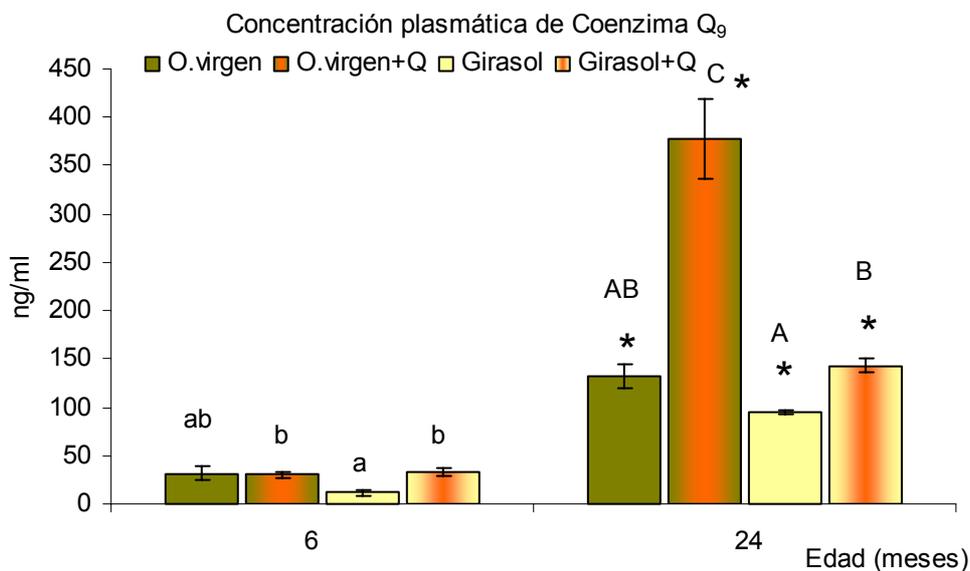


Figura 44 – Concentración plasmática de CoQ₉ en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.4 Concentración plasmática de coenzima Q₁₀.

A los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la concentración plasmática de CoQ₁₀ entre el grupo V en comparación con VQ y GQ, además de diferencia entre G y en comparación con VQ y GQ. Entre V y G no hay diferencia, de la misma forma que entre VQ y GQ. A los 24 meses se observó diferencias significativas, cuando comparamos tal concentración, en V en comparación con los grupos VQ y GQ; además de diferencia entre el grupo G en comparación con los grupos VQ y GQ. Entre GQ y VQ también hay diferencia significativa. Entre V y G no hubo diferencia. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la concentración plasmática de CoQ₁₀, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

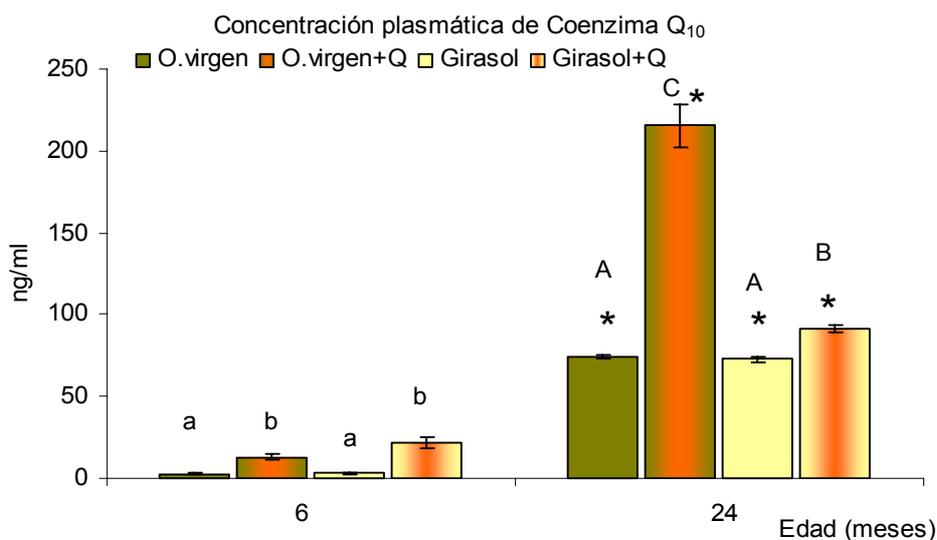


Figura 45 – Concentración plasmática de CoQ₁₀ en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencias estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.5 Relación plasmática entre coenzima Q₉:coenzima Q₁₀.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la relación plasmática de CoQ₉:CoQ₁₀ entre el grupo V en comparación con todos los demás (VQ; GQ y GQ), además de diferencia entre VQ y en comparación con V y GQ. Entre G en comparación con V y GQ también hay diferencia. Entre VQ y G no hay diferencia y entre VQ y GQ tampoco. A los 24 meses no se observó diferencias significativas entre ningún grupo. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos V; VQ y G. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la relación plasmática de CoQ₉:CoQ₁₀, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

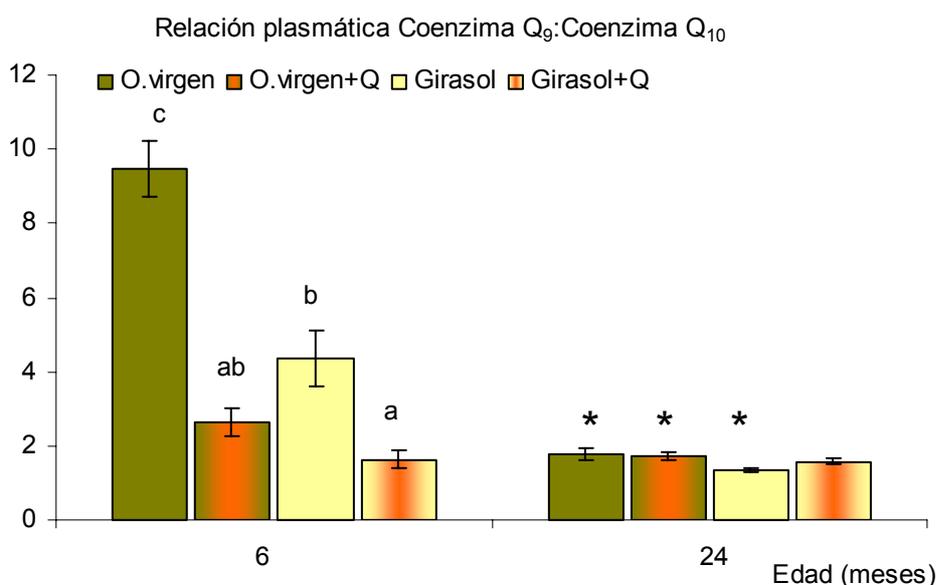


Figura 46 – Relación plasmática de CoQ₉:CoQ₁₀ en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.6 Concentración plasmática de coenzima Q₉₊₁₀.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la concentración plasmática de CoQ₉₊₁₀ entre el grupo los VQ; G y GQ entre si. El grupo V no presenta diferencia en relación a ningún otro grupo. A los 24 meses se observó diferencias entre los grupo VQ; G y GQ entre si. Además, el grupo V presenta diferencia estadística en relación a VQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la concentración plasmática de CoQ₉₊₁₀, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

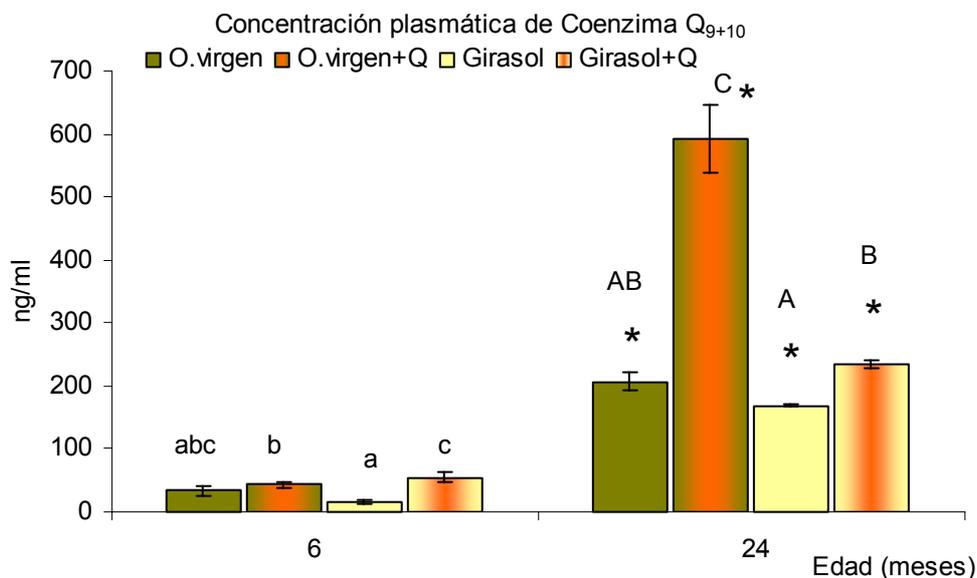


Figura 47 – Concentración plasmática de CoQ₉₊₁₀ en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.7 Capacidad antioxidante total del plasma.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la capacidad antioxidante total del plasma entre los grupos V en comparación con VQ y GQ; además de diferencia entre G en comparación con VQ y GQ. Entre V y G no hay diferencia estadística, tampoco entre GQ y VQ. A los 24 meses se observó diferencias entre los grupos G en comparación con V y GQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos V; VQ y G. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron la capacidad antioxidante total del plasma, o sea, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tiempo como factor aislado no condicionó la varianza.

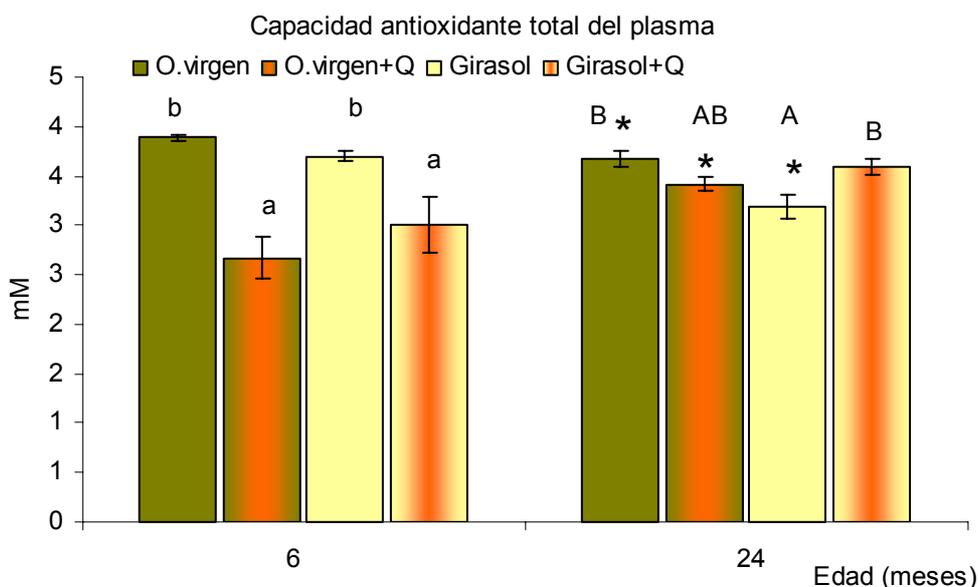


Figura 48 – Capacidad antioxidante total del plasma en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,002; T: 0,192; TDxT: 0,001.

4.3.8 Daño oxidativo en ADN de linfocitos de sangre periférica.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al daño oxidativo en linfocitos de sangre periférica entre VQ y todos los demás grupos y entre G y todos los demás. A los 24 meses se observó exactamente las mismas diferencias significativas cuando comparamos tal contenido, o sea, entre VQ y todos los demás grupos y entre G y todos los demás. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores que condicionaron el daño oxidativo en linfocitos de sangre periférica, o sea, el tiempo y el tratamiento dietético. La interacción entre tratamiento dietético y tiempo no condicionó el análisis de varianza.

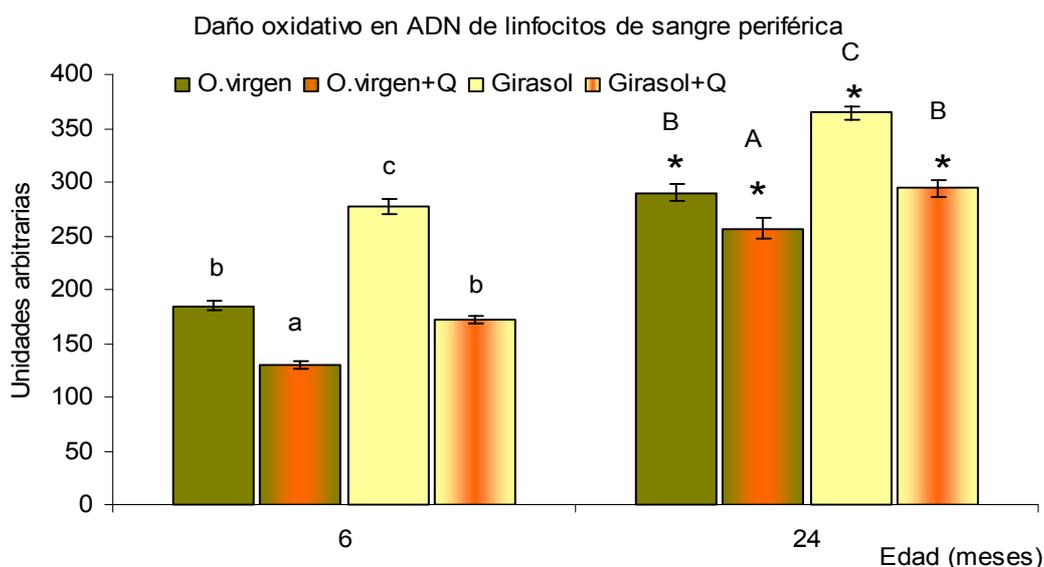


Figura 49 – Daño oxidativo en ADN de sangre periférica de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,020; T: 0,000; TDxT: 0,061.

4.3.9 Contenido relativo en C₁₄ (ácido mirístico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C₁₄ entre el grupo VQ en comparación con todos GQ. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre el grupo G y VQ y entre el mismo grupo G y GQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, no observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses. El análisis de varianza de dos vías demostró que ninguno de los factores condicionó el contenido relativo en C₁₄, o sea, ni el tiempo, ni el tratamiento dietético y tampoco la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

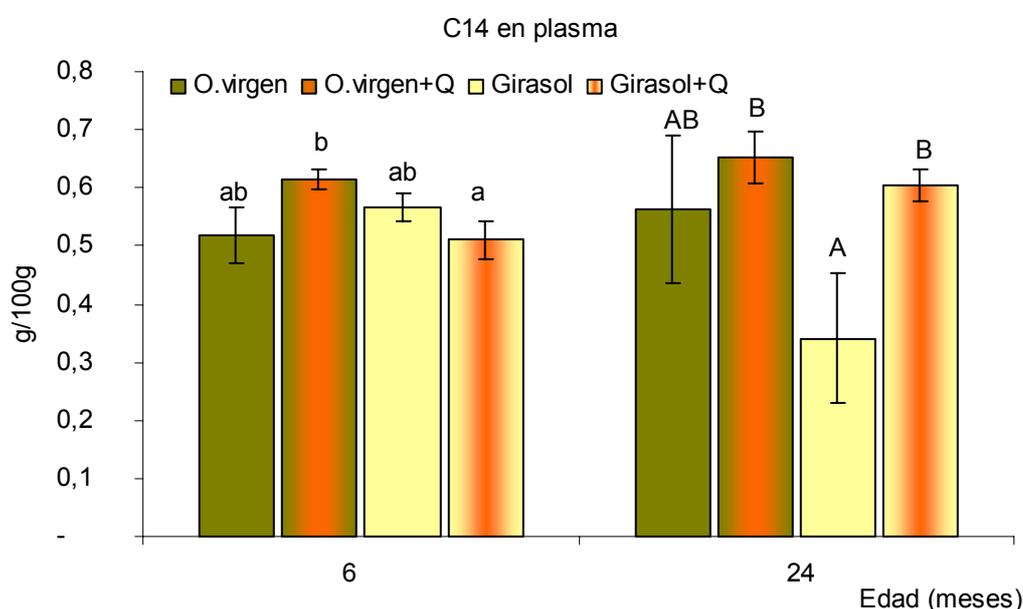


Figura 50 – Contenido relativo en C₁₄ (ácido mirístico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,092; T: 0,801; TDxT: 0,118.

4.3.10 Contenido relativo en C₁₆ (ácido palmítico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C₁₆ entre el grupo V en comparación con VQ; GQ y entre el mismo grupo V y VQ. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre G y GQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que sólo uno de los factores condicionó el contenido relativo en C₁₆, o sea, el tiempo. El tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo no condicionaron significativamente.

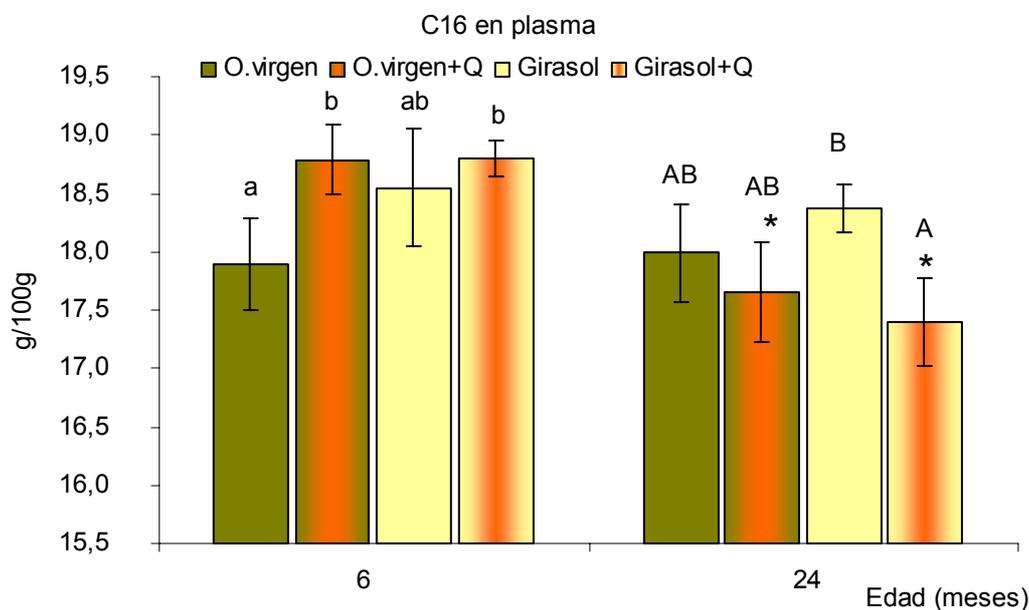


Figura 51 – Contenido relativo en C₁₆ (ácido palmítico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,582; T: 0,019; TDxT: 0,153.

4.3.11 Contenido relativo en C₁₈ (ácido esteárico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C₁₈ entre el grupo G en comparación con los demás (V, VQ y GQ) y entre el grupo GQ y los demás (GQ, V y VQ). A los 24 meses se observó diferencia significativa entre G y GQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en el grupo G. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron el contenido relativo en C₁₈, o sea, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tiempo como factor aislado no influyó.

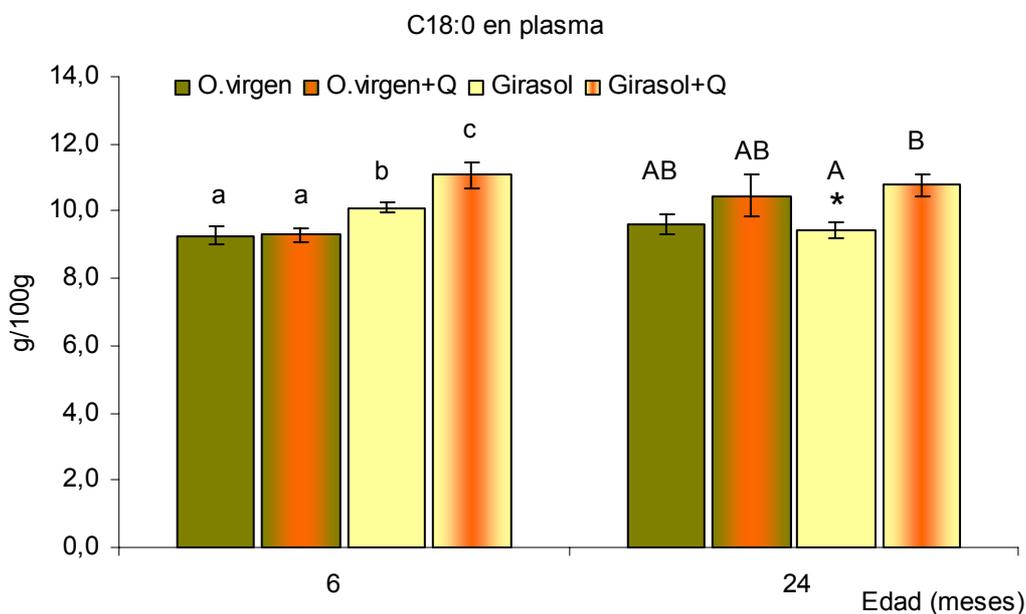


Figura 52 – Contenido relativo en C₁₈ (ácido esteárico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,001; T: 0,584; TDxT: 0,046.

4.3.12 Contenido relativo en C₂₄.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C₂₄ entre el grupo V en comparación con todos los demás (VQ; G y GQ) y entre VQ y todos los demás (V, G y GQ). A los 24 meses se observó diferencia significativa entre el grupo VQ en comparación con los grupos G y V y entre el grupo GQ y los grupos G y V. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron el contenido relativo en C₂₄, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

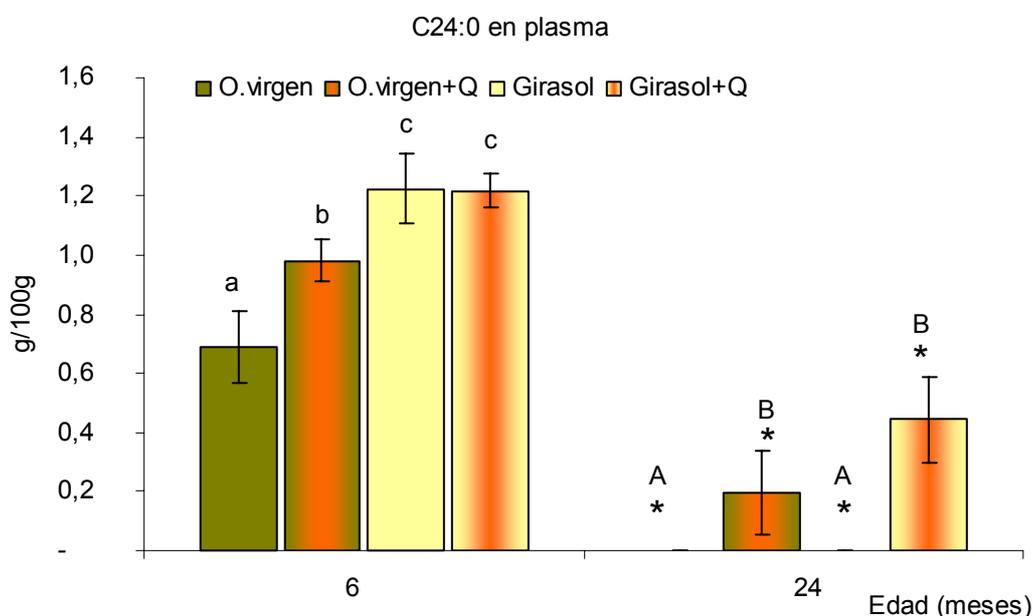


Figura 53 – Contenido relativo en C₂₄ en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,044.

4.3.13 Contenido relativo en C_{16:1n-9}.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C_{16:1n-9} entre el grupo VQ, GQ y G entre si, además de diferencia entre V y GQ. A los 24 meses se observó diferencias significativas entre el grupo V; VQ y G entre si y entre V; VQ y GQ entre si. Entre G y GQ no hubo diferencia significativa. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en el grupos G. El análisis de varianza de dos vías demostró sólo uno de los factores condicionó el contenido relativo en C_{16:1n-9}, o sea, el tratamiento dietético. El tiempo y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo no influenciaron significativamente.

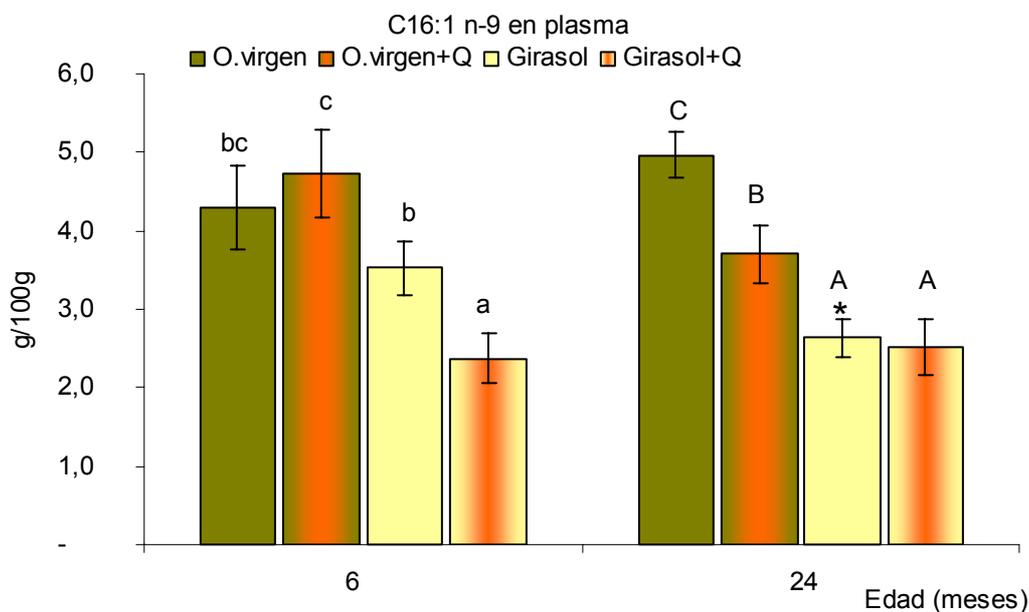


Figura 54 – Contenido relativo en C₁₆ (ácido palmítico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencias estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,350; TDxT: 0,114.

4.3.14 Contenido relativo en C_{18:1n-9} (ácido oleico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C_{18:1n-9} entre el grupo V en comparación con G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. A los 24 meses se observó diferencias significativas entre todos los grupos entre si (V; VQ; G y GQ). Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en el grupo GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron el contenido relativo en C_{18:1n-9}, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

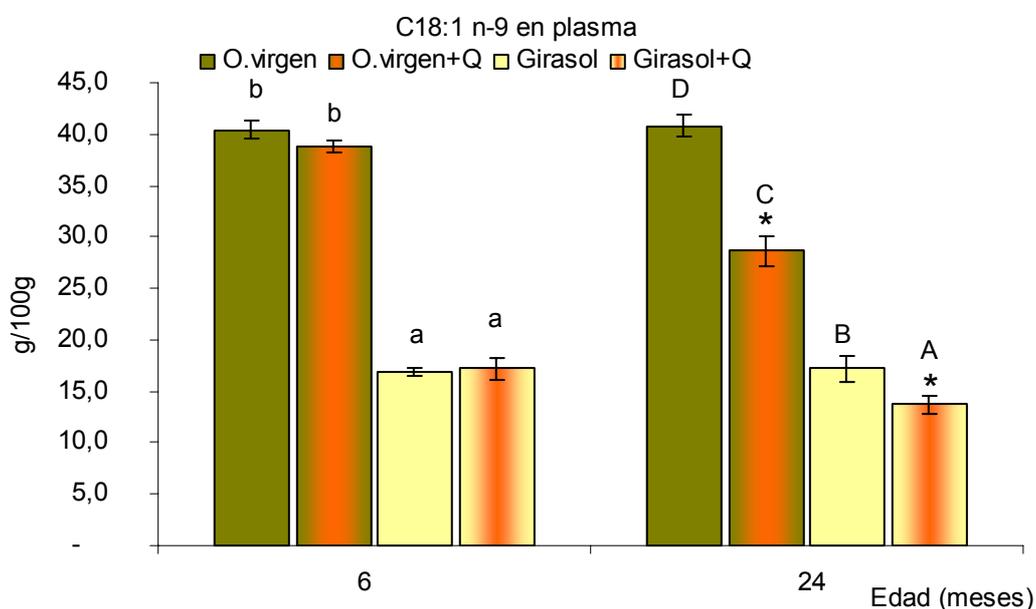


Figura 55 – Contenido relativo en C_{18:1n-9} (ácido oleico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.15 Contenido relativo en C_{18:2n-6} (ácido linoleico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C_{18:2n-6} entre el grupo V en comparación con G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. A los 24 meses no observó diferencia significativa entre los grupos V; VQ y GQ entre si, y entre los grupos V; VQ y G entre si. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en el grupo VQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron el contenido relativo en C_{18:2n-6}, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

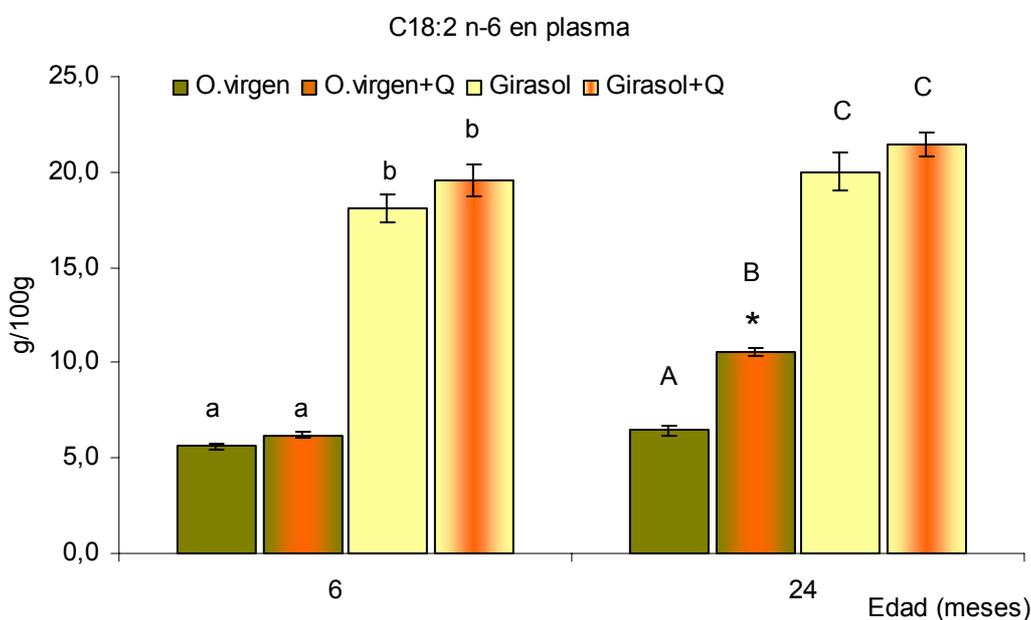


Figura 56 – Contenido relativo en C_{18:2n-6} (ácido linoleico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,008.

4.3.16 Contenido relativo en C_{18:3n-3}

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C_{18:3n-3} entre el grupo V en comparación con todos los demás (VQ; GQ y GQ), además de diferencia entre VQ y en comparación con V y GQ. Entre G en comparación con V y GQ también hay diferencia. Entre VQ y G no hay diferencia y entre VQ y GQ tampoco. A los 24 meses no se observó diferencias significativas entre ningún grupo. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos V; VQ y G. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron el contenido relativo en C_{18:3n-3}, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

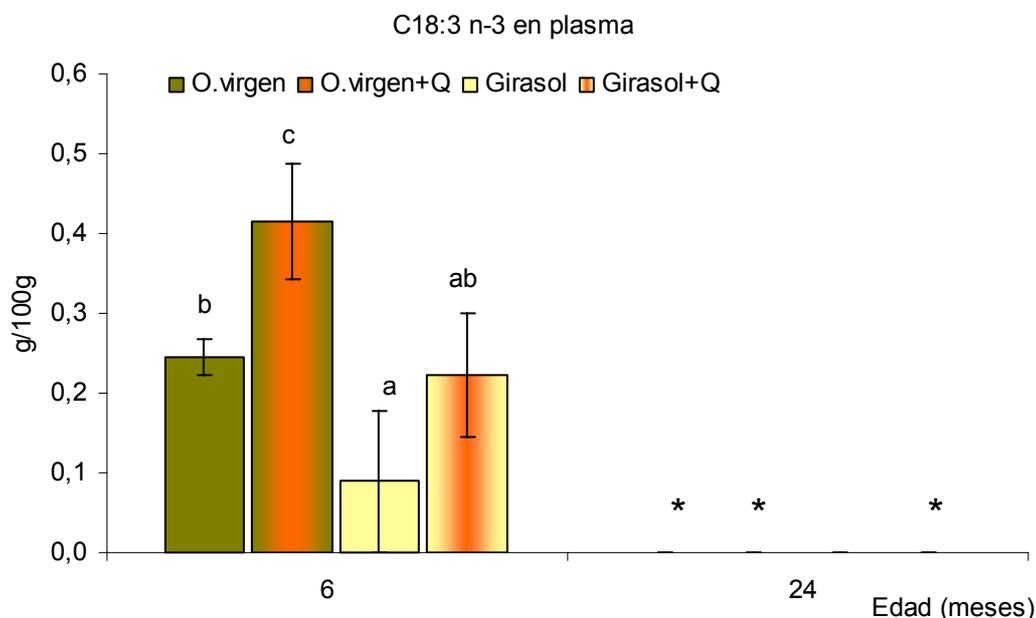


Figura 57 – Contenido relativo en C_{18:2n-6} (ácido linoleico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,020; T: 0,000; TDxT: 0,020.

4.3.17 Contenido relativo en $C_{20:2n-6}$

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en $C_{20:2n-6}$ entre el grupo V en comparación con G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. Entre G en comparación con V y GQ también hay diferencia. Entre VQ y G no hay diferencia y entre VQ y GQ tampoco. A los 24 meses se observó diferencias significativas entre los grupo V; VQ y G entre si y entre los grupos V; VQ y GQ entre si. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, no observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron el contenido relativo en $C_{20:2n-6}$, o sea, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. El tiempo como factor aislado no condicionó significativamente.

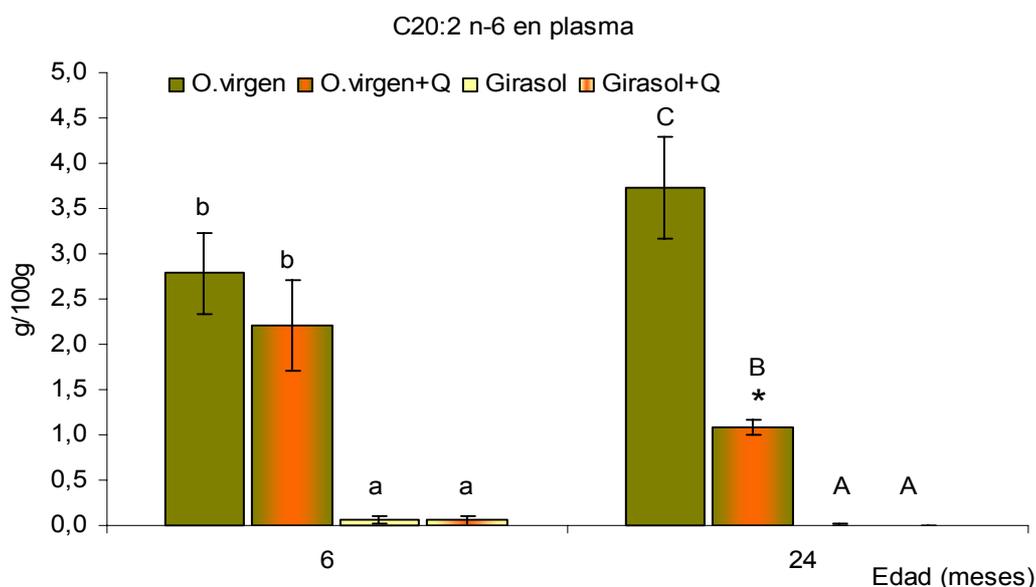


Figura 58 – Contenido relativo en $C_{20:2n-6}$ en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ_{10} , y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} ; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} . Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,778; TDxT: 0,040.

4.3.18 Contenido relativo en C_{20:3n-6}

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C_{20:3n-6} entre el grupo G en comparación con todos los demás (V; VQ y GQ). A los 24 meses se observó diferencia significativa entre el grupo V en comparación con G y GQ, y entre el grupo VQ cuando comparado con los grupos G y GQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos G y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron el contenido relativo en C_{20:3n-6}, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético. La interacción entre tratamiento dietético y tiempo no condicionó.

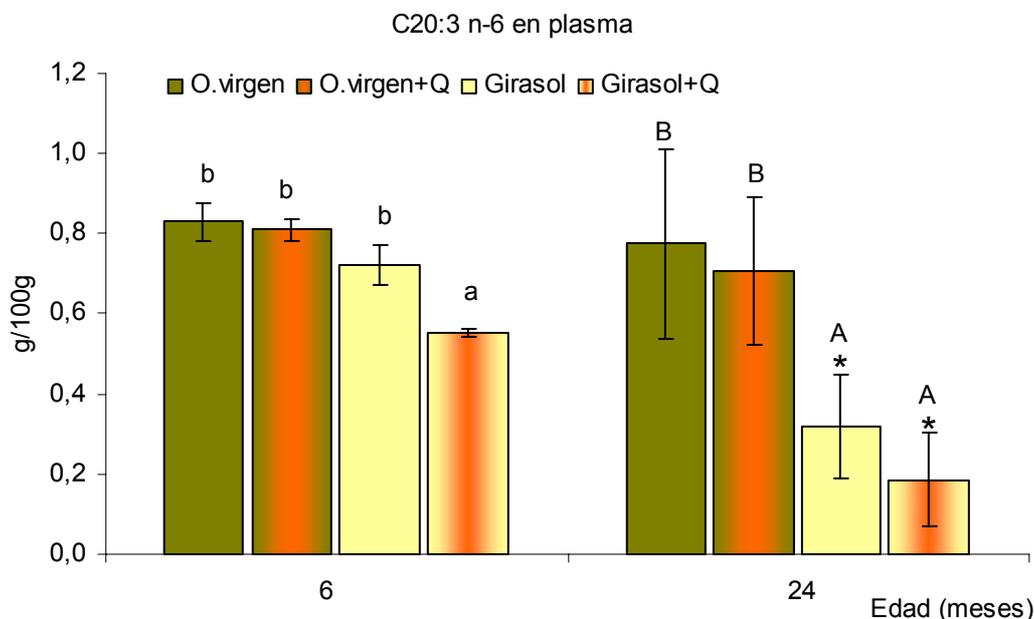


Figura 59 – Contenido relativo en C_{20:3n-6} en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencias estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,006; T: 0,016; TDxT: 0,435.

4.3.19 Contenido relativo en C_{20:4n-6} (eicosatetraenoico o ácido araquidónico).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C_{20:4n-6} entre los grupos V; G y GQ entre si, además de diferencia entre los grupos VQ; G y GQ entre si. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre los grupos V; VQ y G entre si, además de diferencia entre los grupos V; VQ y GQ entre si. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron el contenido relativo en C_{20:4n-6}, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

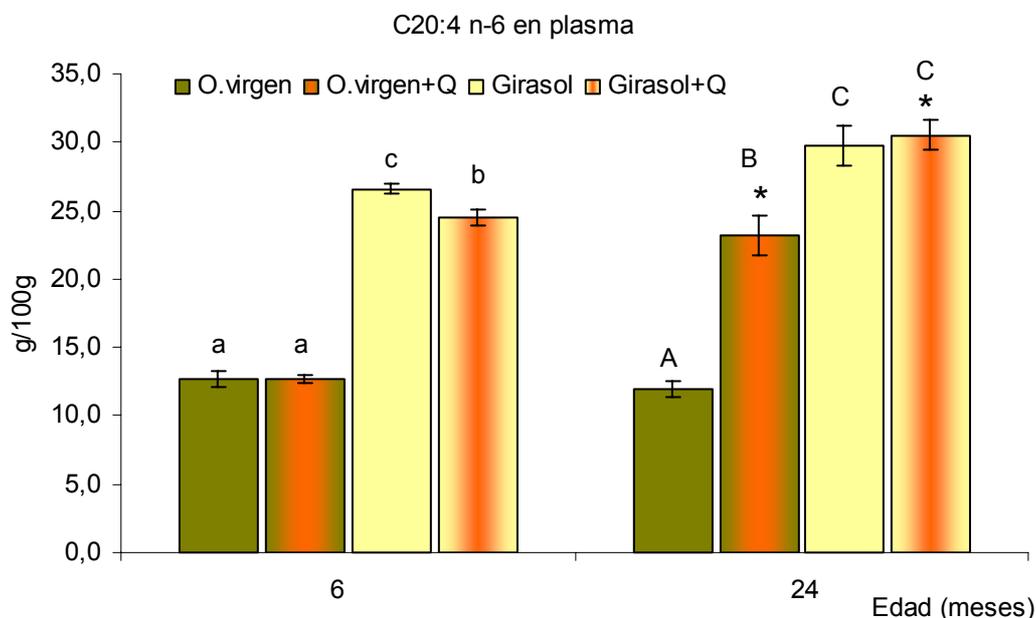


Figura 60 – Contenido relativo en C_{20:4n-6} (eicosatetraenoico o ácido araquidónico) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.20 Contenido relativo en $C_{20:5n-3}$ (eicosapentaenico o EPA).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en $C_{20:5n-3}$ entre el grupo V en comparación con todos los demás (VQ; GQ y GQ), además de diferencia entre V y en comparación con los grupos G y GQ y entre VQ en comparación con G y GQ. A los 24 meses se observó diferencias significativas entre V en comparación con los grupos G y GQ y entre el grupo VQ en comparación con G y GQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en el grupo V. El análisis de varianza de dos vías demostró que sólo un factor condicionó el contenido relativo en $C_{20:5n-3}$, o sea, el tratamiento dietético. El tiempo y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo no condicionaron significativamente.

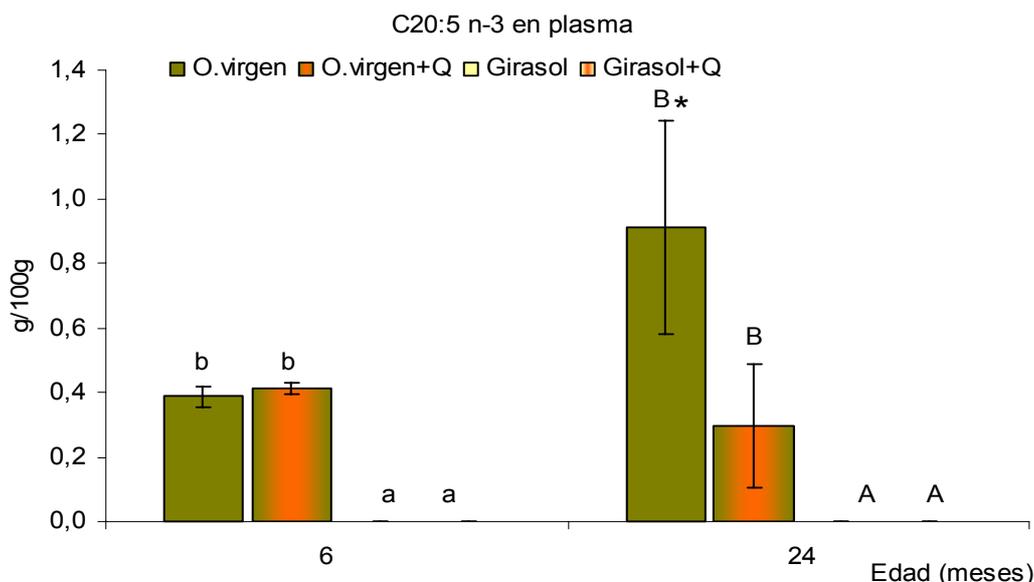


Figura 61 – Contenido relativo en $C_{20:5n-3}$ (eicosapentaenico o EPA) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ_{10} , y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} ; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} . Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,352; TDxT: 0,131.

4.3.21 Contenido relativo en C_{22:6n-3} (docosahexaenoico o DHA).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C_{22:6n-3} entre el grupo V; G y GQ entre si; además de diferencia entre los grupos VG; G y GQ entre si. A los 24 meses se observó diferencias significativas entre V en comparación con los grupos G y GQ y entre el grupo VQ en comparación con G y GQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos G y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que sólo un factor condicionó el contenido relativo en C_{22:6n-3}, o sea, el tratamiento dietético. El tiempo y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo no condicionaron significativamente.

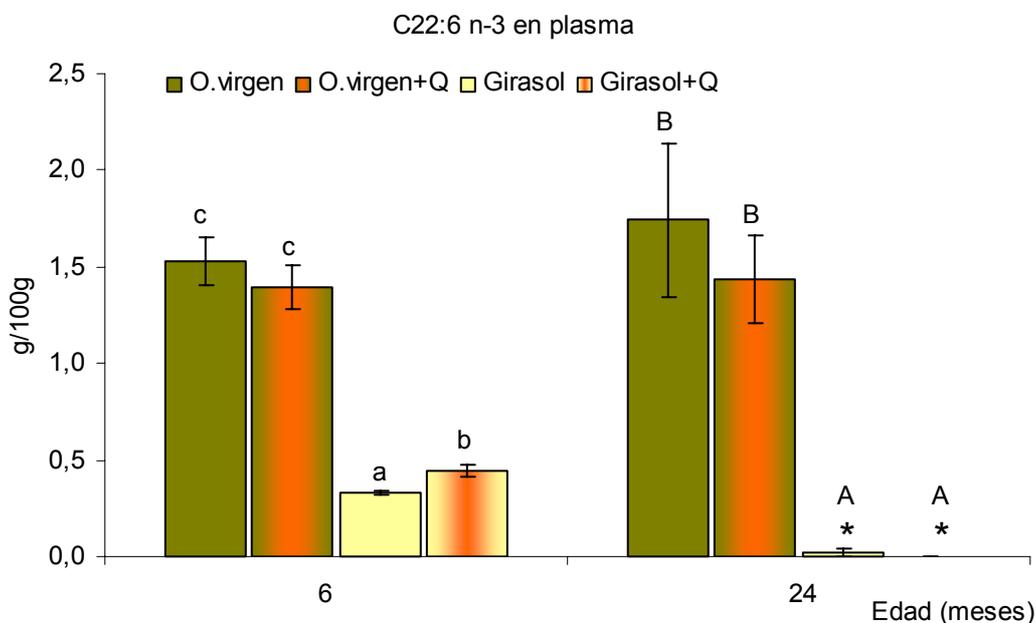


Figura 62 – Contenido relativo en C_{22:6n-3} (docosahexaenoico o DHA) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,364; TDxT: 0,315.

4.3.22 Contenido relativo en C_{22:1n-9}.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en C_{22:1n-9} entre el grupo V en comparación con los grupos G y GQ y entre el grupo VQ en comparación con G y GQ. A los 24 meses no se observó diferencias significativas entre ningún grupo. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que sólo un factor condicionó el contenido relativo en C_{22:1n-9}, o sea, el tratamiento dietético. El tiempo y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo no condicionaron significativamente.

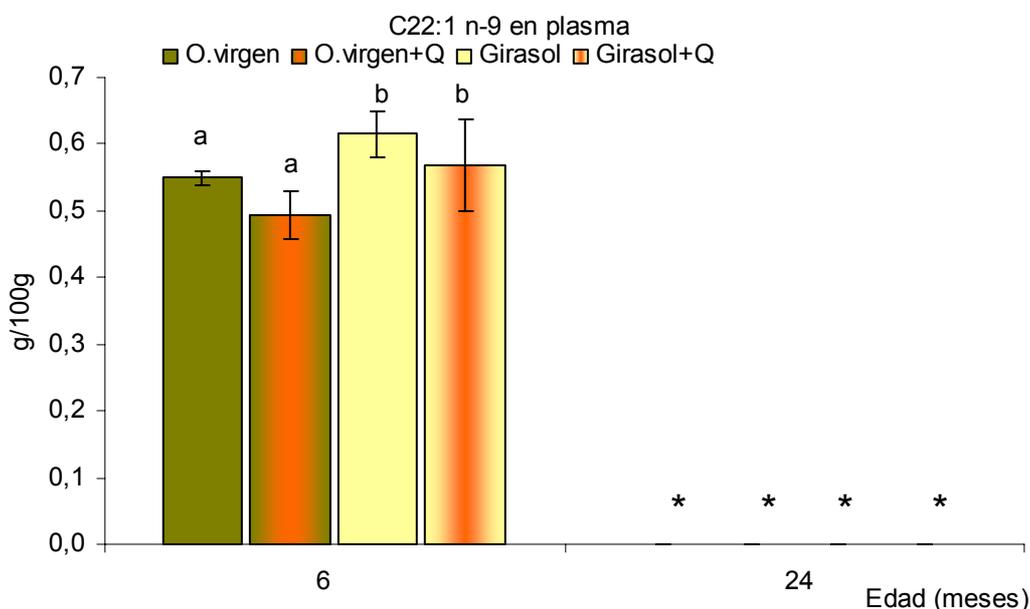


Figura 63 – Contenido relativo en C_{22:1n-9} en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,198; T: 0,000; TDxT: 0,198.

4.3.23 Contenido relativo en $C_{24:1n-9}$.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto al contenido relativo en $C_{24:1n-9}$ entre el grupo V; G y GQ entre si; además de diferencia entre los grupos VQ; G y GQ entre si V en comparación con todos los demás (VQ; GQ y GQ), además de diferencia entre VQ y en comparación con V y GQ. Entre G en comparación con V y GQ también hay diferencia. Entre VQ y G no hay diferencia y entre VQ y GQ tampoco. A los 24 meses se observó diferencia significativa en los grupos V; VQ y GQ entre si y entre el grupo V y G. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en el grupo GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron el contenido relativo en $C_{24:1n-9}$, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

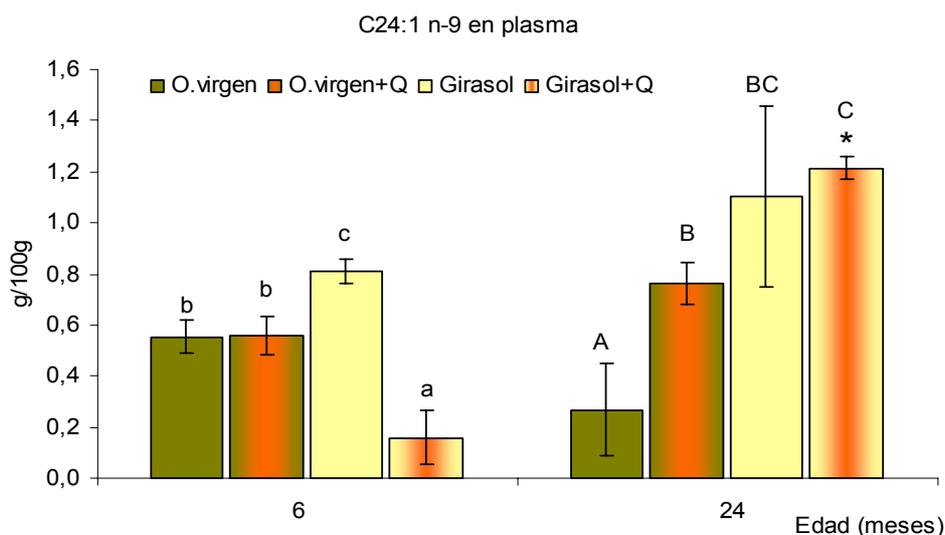


Figura 64 – Contenido relativo en $C_{24:1n-9}$ en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ_{10} , y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} ; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ_{10} . Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,004; T: 0,003; TDxT: 0,000.

4.3.24 Suma de ácidos grasos saturados totales (SFA).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la suma de ácidos grasos saturados totales entre los grupo V; GQ y G entre si, además de diferencia entre VQ y GQ. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre los grupos V y GQ. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos G y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que dos factores condicionaron la suma de ácidos grasos saturados totales, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético. La interacción entre tratamiento dietético y tiempo no condicionó significativamente

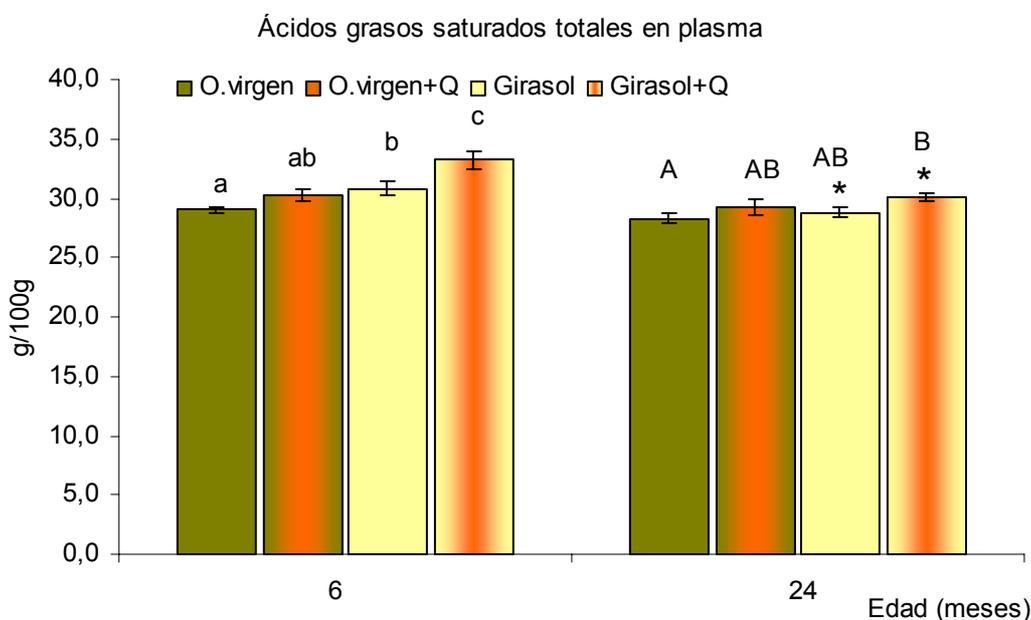


Figura 65 – Suma de ácidos grasos saturados totales (SFA) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencias estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,138.

4.3.25 Suma de ácidos grasos monoinsaturados totales (AGM).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la suma de ácidos grasos monoinsaturados totales entre el grupo V en comparación con los grupos G y GQ y entre el grupo VQ en comparación con G y GQ. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre todos los grupos entre si (V; VQ; G y GQ). Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en el grupo VQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la suma de ácidos grasos monoinsaturados totales, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

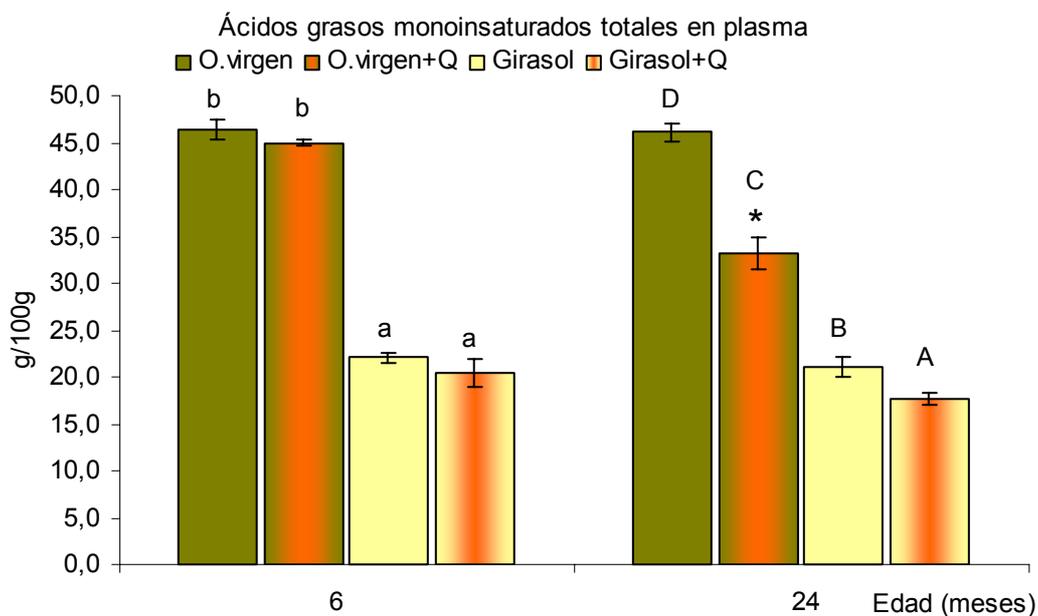


Figura 66 – Suma de ácidos grasos monoinsaturados totales (AGM) en sangre periférica de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencias estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.326 Suma de ácidos grasos poliinsaturados totales (AGP).

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la suma de ácidos grasos poliinsaturados totales entre el grupo V en comparación con los grupos G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre todos los grupos entre si. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la suma de ácidos grasos poliinsaturados totales, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

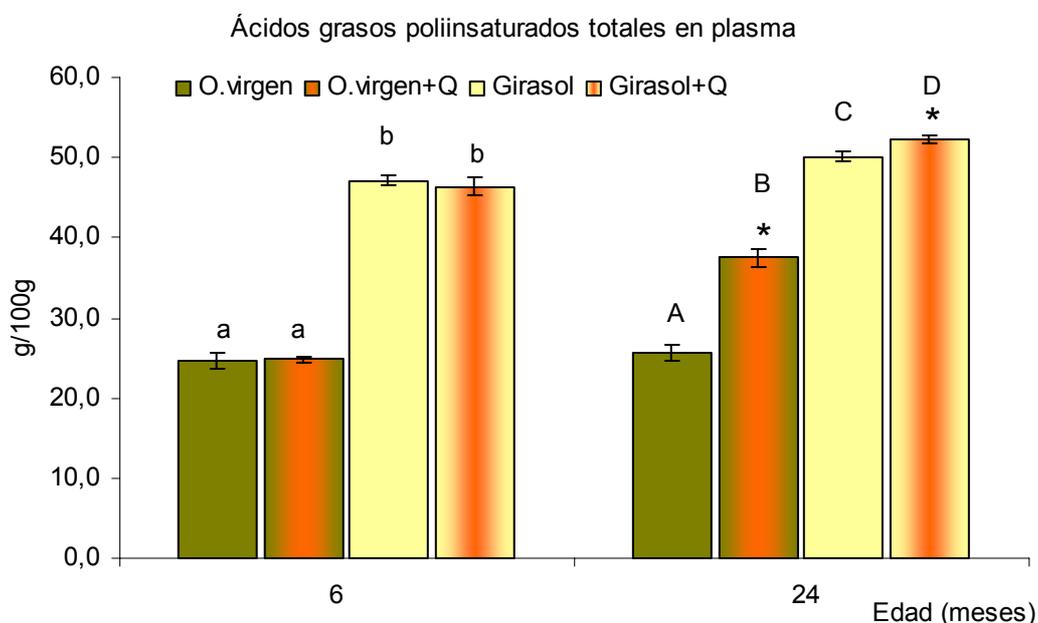


Figura 67 – Suma de ácidos grasos poliinsaturados totales (AGP) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.27 Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 entre el grupo V en comparación con los grupos G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre todos los grupos entre si. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en todos los grupos (V; VQ; G y GQ). El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

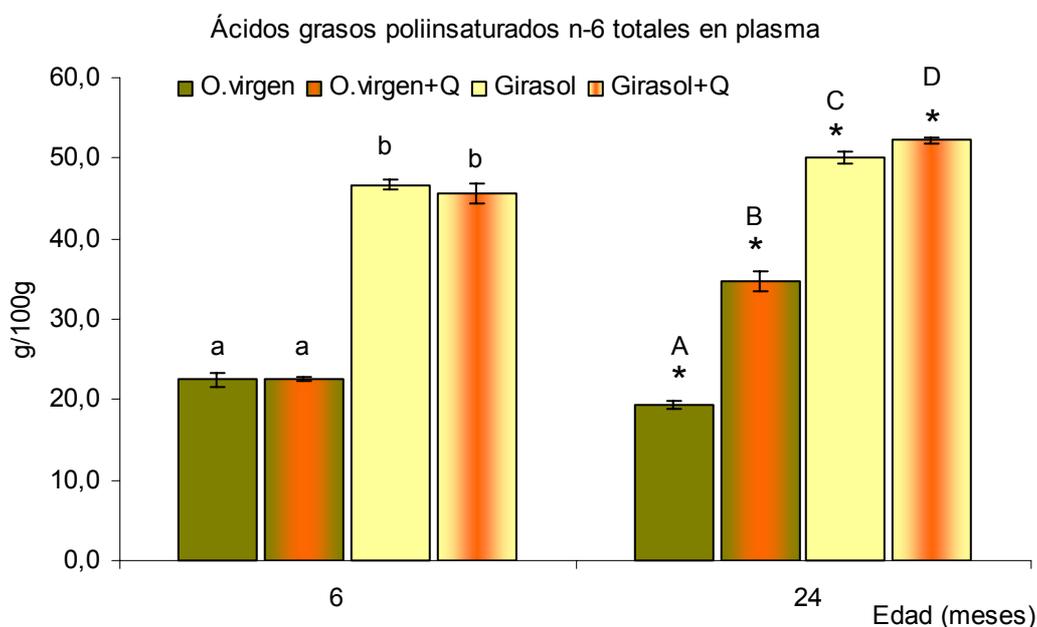


Figura 68 – Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media \pm EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.28 Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 entre los grupos V; G y GQ entre si y entre los grupos VQ; G y GQ. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre los grupo G; V y VQ entre si y entre los grupos GQ; V y VQ entre si. Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos VQ; GQ y G. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

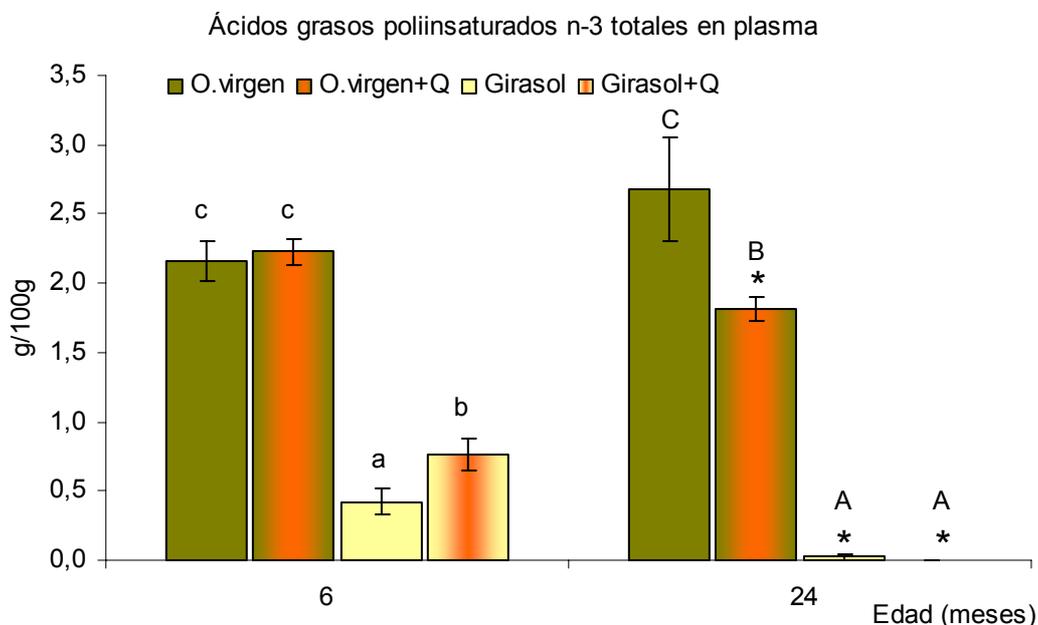


Figura 69 – Suma de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 en sangre periférica de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,044; TDxT: 0,005.

4.3.29 Relación entre los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 y los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la relación entre los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 y de la serie n-3 entre el grupo V en comparación con los grupos G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre todos los grupos entre si (V; VQ; G y GQ). Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos G y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la relación entre los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 y de la serie n-3, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

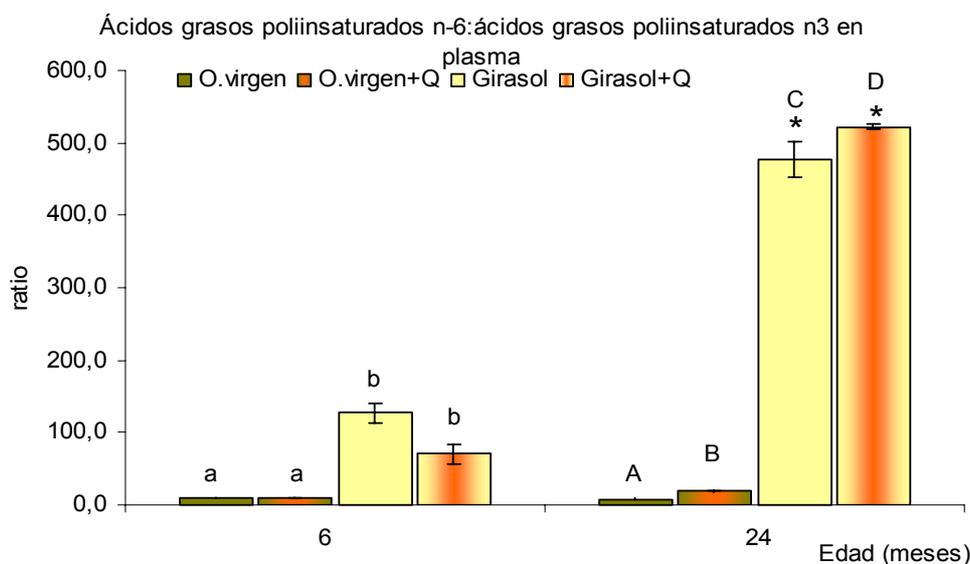


Figura 70 – Relación de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 y de la serie n-3 en sangre periférica de ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos ($P < 0,05$) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencias estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística ($P < 0,05$). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto ($P < 0,05$) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.30 Relación entre el contenido relativo de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados (AGM/AGP)

Comparando los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la relación entre el contenido relativo de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados entre el grupo V en comparación con los grupos G y GQ, además de diferencia entre VQ y en comparación con G y GQ. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre todos los grupos entre si (V; VQ; G y GQ). Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la relación entre el contenido relativo de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

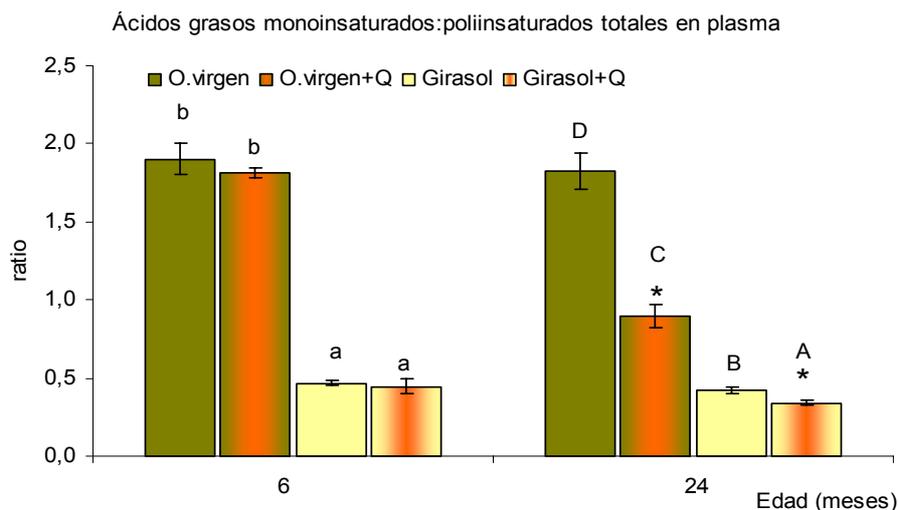


Figura 71 – Relación entre el contenido relativo de ácidos monoinsaturados y poliinsaturados (AGM/AGP) en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

4.3.31 Relación entre el contenido relativo de ácido oleico y linoleico.

Comparando solamente los grupos a los 6 meses observamos diferencia estadística cuanto a la relación entre el contenido relativo de ácido oleico y linoleico entre el grupo V; VQ y G entre si, además de diferencia entre V; VQ y GQ entre si. A los 24 meses se observó diferencia significativa entre todos los grupos entre si (V; VQ; G y GQ). Cuando comparamos este parámetro tomando en tiempo como punto de análisis, observamos diferencia significativa a los 6 meses si comparados a los 24 meses en los grupos VQ y GQ. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la relación entre el contenido relativo de ácido oleico y linoleico, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

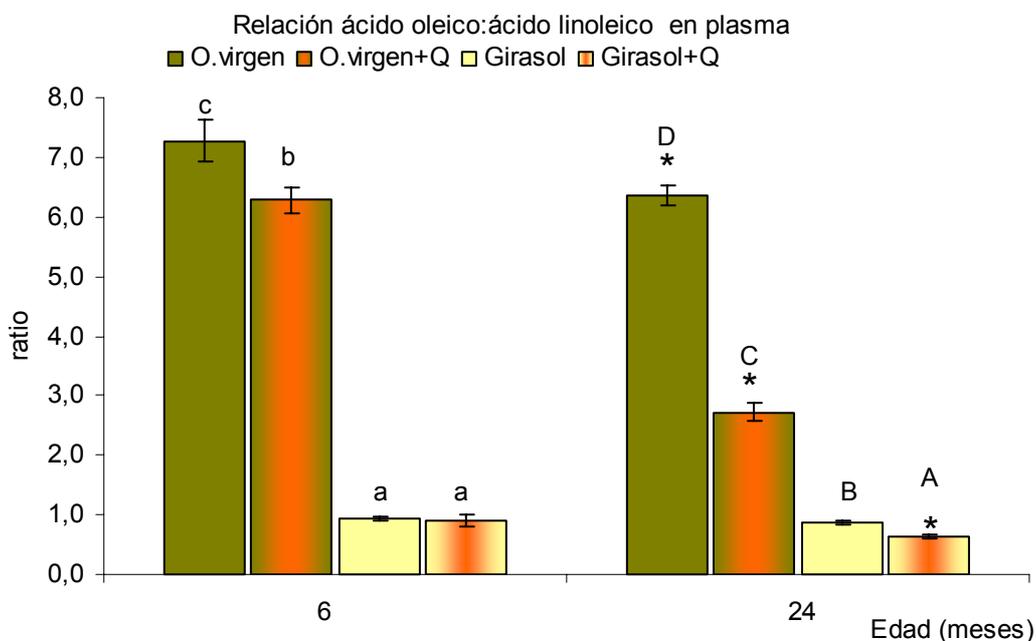


Figura 72 – Relación entre el contenido relativo de ácido oleico y linoleico en ratas alimentadas con dietas isoenergéticas, diferenciadas por su fuente de grasa (aceite de oliva o de girasol), enriquecidas o no con CoQ₁₀, y sacrificio efectuado a los 6 y 24 meses. Los resultados representan la media ± EEM de cada grupo. Los mismos estaban formados por 8 animales cada uno. Las abreviaturas de los grupos significan G = grupo alimentado con aceite de girasol; GQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀; V = grupo alimentado con aceite de oliva; VQ = grupo alimentado con aceite de girasol más CoQ₁₀. Las diferencias estadísticas entre los grupos (P<0,05) son indicados en el gráfico por letras minúsculas, mayúsculas y por asteriscos. Las diferencia estadísticas entre los grupos dependientes del tiempo, condicionados por la misma dieta, se representa con un asterisco (*). La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 6 meses se representa gráficamente por las letras minúsculas (a,b,c) de acuerdo con su necesidad. La diferencia estadística condicionada solamente por el tratamiento dietético a los 12 meses se representa gráficamente por las letras mayúsculas (A,B,C) de acuerdo con su necesidad. Cuando no hay letras significa que no hay diferencia significativa. Letras coincidentes representan ausencia de diferencia y letras diferentes determinan diferencia estadística (P<0,05). Se utilizó el análisis de varianza de dos vías utilizado para estudiar el efecto (P<0,05) sobre la variable estudiada del tratamiento dietético (TD); del tiempo; y de la interacción entre ambos (TDxT) con el siguiente resultado TD: 0,000; T: 0,000; TDxT: 0,000.

Capítulo 5- DISCUSIÓN

5.1 Introducción

El envejecimiento es un fenómeno natural observado entre todos los seres vivos multicelulares, y se define como en biología, conjunto de modificaciones inevitables e irreversibles que se producen en un organismo con el paso del tiempo, y que finalmente conducen a la muerte. Tales cambios varían considerablemente, en el tiempo y gravedad de los acontecimientos, según las distintas especies, y de un organismo a otro. En el hombre, estas modificaciones comprenden la reducción de la flexibilidad de los tejidos, la pérdida de algunas células nerviosas, el endurecimiento de los vasos sanguíneos, y la disminución general del tono corporal. Los biólogos interesados por el envejecimiento investigan dichos cambios o centran su atención en los déficit e incapacidades corporales que se acumulan con la edad, si bien, éstos parecen ser un resultado más directo de las enfermedades, el estrés, o factores ambientales.

Aunque la investigación sobre el envejecimiento biológico no está basada en ninguna teoría aceptada universalmente, los estudios genéticos, celulares y fisiológicos han suscitado varias hipótesis. Uno de los conceptos genéticos más importantes, la llamada teoría del error, supone que las alteraciones propias de la edad se deben a la acumulación de errores genéticos aleatorios, o a pequeños errores en la transmisión de información genética. Estos daños o errores reducen o impiden el funcionamiento adecuado de las células. La disminución de las funciones corporales, con inevitable muerte celular por imposibilidad de reaccionar ante al daño oxidativo provocado por el estrés oxidativo también es factor importante en el envejecimiento (SOHAL y cols., 2002).

La teoría del estrés oxidativo, que es una de las más aceptadas, se basa en los daños en que molécula u organismo puede sufrir causados por especies reactivas del oxígeno. Tales especies, como los radicales libres y peróxidos, representan una clase de moléculas que son derivadas del metabolismo del oxígeno. Especies reactivas del oxígeno pueden ser generadas a partir de fuentes endógenas, como la generación en la mitocondria, por fosforilación oxidativa o a partir de fuentes exógenas, como las infecciones virales, bacteriológicas o fúngicas (KELLER y cols., 2000).

Otro factor importante está en el hecho de que las mitocondrias sean la fuente más importante de generadores de las especies reactivas del oxígeno, también

llamados radicales libres. Tales lesiones son muchas veces cumulativas en el organismo lo que contribuye de forma masiva en envejecimiento (SASTRE y cols., 2003)

Como mencionado con anterioridad, la utilización del oxígeno en los procesos de respiración celular está en la orden de 96 a 99%. *“En distintos niveles de la cadena (...) el oxígeno toma un electrón por molécula (...) reduciéndose a anión superóxido (O_2^-), o dos electrones convirtiéndose en peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La cadena respiratoria, constituye por lo tanto la mayor fuente de estas especies reactivas de oxígeno (...)*” (ALVAREZ y cols., 2000). Del 1 al 4%, no utilizado, por tanto, por la citocromo oxidasa, se destina a la producción de H_2O_2 y O_2^- .

Cuando ocurre el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno, producción esa que puede ser acrecida por la presencia de anoxia, que promueve la reacción catalítica con metales, y reperfusión sanguínea; las mitocondrias se transforman en el mayor objetivo de destrucción. Ocurre una cadena de eventos que envuelve la peroxidación de lípidos, oxidación proteica y daño al DNA con debilidad en la actividad enzimática y finalización de la actividad mitocondrial (LENAZ y cols., 1999).

En los estudios celulares, una de las teorías del envejecimiento está basada en el llamado efecto Hayflick, que recibió el nombre del microbiólogo americano Leonard Hayflick. Éste observó en un cultivo celular, que ciertas células humanas experimentaban sólo un número limitado de divisiones celulares antes de morir. Este hallazgo sugiere que el envejecimiento está programado en el interior de la células, y podría explicar las diferencias que existen en la duración de la vida de las distintas especies animales, así como la longevidad desigual de los distintos sexos en las mismas especies. Por ejemplo, en la especie humana, las mujeres habitualmente viven una media de ocho años más que los varones.

La fuente de grasa en la dieta también juega un papel importante en el proceso de envejecimiento, una vez que altera los factores bioquímicos de las membranas mitocondriales (MATAIX y cols., 1998). La adaptabilidad de la membrana lipídica, debido al aporte de lípidos distintos en la dieta, que alteran su composición, está claramente demostrada en varios estudios. El transporte electrónico también se modifica según la composición de estos lípidos (QUILES y cols., 2001).

El fenómeno de la lipoperoxidación ocurre debido a la conformación bioquímica de las moléculas grasas que *“poseen tres o más uniones carbono-carbono con doble ligadura, que les confiere una zona de enlace lábil que permite que una*

molécula activa como el OH les sustraiga un átomo de H" (LLESUY,1999).

La mayoría de los estudios sobre envejecimiento, considerando el efecto de la fuente grasa y las enfermedades asociadas se basan en el efecto de la restricción calórica y suplementación con antioxidantes (FINKEL, 2000).

El proceso del envejecimiento humano debe ser considerado también en el contexto de sociedades complejas sujetas a grandes variaciones. La forma en la que la población envejece no está totalmente determinada por la biología, también está influida por las circunstancias sociales y el ambiente individual. En consecuencia, el envejecimiento se contempla cada vez más como un proceso que incluye aspectos culturales y psicosociales. Además, en lugar de limitarse exclusivamente a la etapa de la vejez, su estudio se está extendiendo a todo el periodo vital.

Ya que el proceso del envejecimiento no es inalterable, los estudiosos del comportamiento están buscando formas que puedan modificarlo. Por ejemplo, se han encontrado ciertas técnicas de ayuda para evitar la pérdida de memoria a corto plazo que experimentan algunos ancianos. Se ha establecido un sistema de ayuda en el hogar como medida para favorecer la vida independiente de los pacientes, consiguiendo en ellos niveles de actividad superiores, incluso en algunos casos que se consideraban irrecuperables. También se ha comprobado que los problemas nutricionales derivados de la disminución de los sentidos del gusto y el olfato, son fácilmente resueltos con simples cambios en la condimentación de los alimentos; además, están siendo perfeccionados los medios técnicos que permitan aliviar los problemas visuales y auditivos de la vejez.

El objetivo del presente estudio es determinar la susceptibilidad de las mitocondrias de corazón a las alteraciones oxidativas asociadas al envejecimiento a partir de la administración de una dieta isocalóricas, conteniendo fuentes de grasa diferentes. Las dos fuentes lipídicas en cuestión son: aceite de oliva virgen, que presenta fundamentalmente en su constitución ácido oleico, monoinsaturado, menos propenso al efecto oxidativo dañino. La segunda fuente es el aceite de girasol, compuesto básicamente por ácido linoleico poliinsaturado. Observaremos paralelamente, la formación de radicales libres, daños oxidativos, la efectividad de la cadena de transporte electrónica y el efecto protector contra el daño oxidativo por la administración de coenzima Q₁₀. Estudiar el efecto sobre las membranas fosfolipídicas de la administración de dietas de fuentes grasas distinta, a parte de elucidar la acción de la coenzima Q₁₀ y la posible incrementación de su efecto endógeno. Básicamente esta

estudio pueden ayudar a elucidar como la ingerencia dietética modula el proceso de envejecimiento debido al estrés oxidativo y su relación con la mitocondria.

5.1 Adaptación de los animales al modelo experimental.

Generalmente la vida media de una rata Wistar varía de 21 a 28 meses, según la dieta, sexo (HUBERT y cols., 2000) y efectivamente, según las sustancias, sean en forma de dieta, o químicas, que son incorporadas y administradas en los innúmeros experimentos a los que son sometidas.

En media, 50% de las ratas llegan a los 2 años de edad. Con el paso de los años la longevidad de las ratas en la mayoría de los experimentos se vio disminuida probablemente por el aumento del aporte calórico en los varios experimentos (KEENAN y cols., 1998), lo que provoca un aumento de la obesidad (RAO y cols., 1990) y consecuente surgimiento de enfermedades relacionadas.

En los experimentos que utilizan las ratas Wistar como cobayas, tenemos en cuenta las proporciones que involucran la madurez sexual, periodo apto a la reproducción, la senescencia y muerte de las ratas, pudiendo hacer un paralelo comparativamente a los seres humanos sobre sus edades, de forma que a los 6 meses se tratan de ejemplares adultos jóvenes, entre los 12 y 18 son adultos de media edad (PUGH y cols., 1999) y a partir de los 24 meses empieza la fase de vejez (VOLLMAR y cols., 2002) de forma que se debe considerar que a partir de esta edad la incidencia de muerte es alta lo que hace difícil validar ciertos estudios que predicen la supervivencia (KOWALD, 2002). En nuestro estudio realizamos evaluación de los efectos del envejecimiento sobre el tejido cardíaco a los 6 y 24 meses, de forma que sólo consideramos la etapa adulta joven y la vejez.

El aumento del peso corporal que observamos entre los 6 y 24 meses, reflejó una diferencia estadística, explicada básicamente por la influencia del tiempo y disminución del metabolismo por la edad. La dieta y su diferente fuente grasa no influenciaron tal aumento de forma estadística, por más que en todas las especies la metabolización de la glucosa, de las proteínas y de las grasas juega un papel importante en el aumento del peso corporal que el avance de la edad. En el caso del corazón el aumento con el paso del tiempo también se hizo presente donde las ratas pero los

ejemplares que no recibieron el antioxidante presentaron un incremento en el peso de órgano menos proeminente. Si correlacionamos el aumento de peso corporal y del corazón, tal aumento era esperado.

Se atribuye como causas del aumento de la masa corporal por una mayor dependencia tisular de insulina, con producción de respuestas insulínicas menos significantes. La insulina actúa en el metabolismo de varias maneras. Hace con que la glucosa sea almacenada con la finalidad de que el organismo utilice la glucosa como fuente primogénita de producción de energía, en detrimento de la utilización de ácidos grasos. Aumenta, de esa forma, la presencia y formación de glucogenio y, consecuentemente de las reservas de glucosa. Durante la síntesis de proteínas actúa en el transporte de aminoácidos para el interior de la célula, ejerciendo efecto directo sobre los ribosomas, aumentando la traducción del ARN mensajero, formando así nuevas proteínas. Su importancia también es observada en asociación con la hormona del crecimiento, por el hecho de que también es necesario la producción de proteínas (ARDUÍNO, 1962).

Existe un menor requerimiento energético, que es suprimido por la utilización de los lípidos, además de que observamos *una menor liberación de AGL y glicerol por la disminución metabólica y el sedentarismo, a una concentración dada de adrenalina (...) que produciría mayores acúmulos de grasa en tejido adiposo y, por tanto, mayores ganancias de peso a largo plazo* (QUILES, 1995).

Lo que dice respecto al peso del corazón que hacer consideraciones distintas. Para corazón tal observación no parece concisa se tomamos en cuenta el hecho de que el corazón no almacena sustancias necesarias a la producción energética, sin embargo se considera que la degeneración del sistema circulatorio con el paso del tiempo puede haber influenciado tal aumento. Por más que no se hicieron pruebas en ese sentido, podían padecer de insuficiencia cardiaca, aterosclerosis, etc. Dentro de los experimentos realizados donde la fuente de grasa en la dieta es objeto de estudio, hay un consenso general de que las dietas ricas en ácidos grasos saturados son menos benéficas a la salud. Se ha demostrado que están directamente asociadas al surgimiento de estados patológicos, como la aterosclerosis, debido a alteraciones en el metabolismo lipídico (NAVARRO y cols., 1992).

5.2 Adaptación de las membranas mitocondriales cardíacas al perfil lipídico de la dieta.

La protección proporcionada por el aceite de oliva a nivel de membranas mitocondriales y microsomas contra el daño oxidativo es considerablemente mayor si lo comparamos con el aceite de oliva (QUILES y cols., 1999; OCHOA y cols., 2001). Varios estudios demostraron que el aceite de oliva estimula a la formación de membranas donde prospera la presencia de ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3 si comparamos con dietas ricas en aceite de girasol como fuente de grasa (GIRÓN y cols., 1992; NAVARRO y cols., 1994; ESCUDERO y cols., 1998). Nuestro estudio en particular evalúa la acción de los aceites de oliva virgen y girasol sobre el envejecimiento del corazón, contrastando los valores a los 6 meses y a los 24 meses de inicio de experimento. Tal afirmación explica la importancia de la determinación del perfil lipídico de la dieta y su influencia en la adaptabilidad de las membranas mitocondriales cardíacas. La diferencia de constitución grasa entre las dos dietas usadas esta elucidada **en la tabla X**. El aceite oliva virgen, presenta fundamentalmente en su constitución ácido oleico, monoinsaturado, menos propenso al efecto oxidativo dañino. El aceite de girasol está compuesto básicamente por ácido linoleico poliinsaturado.

La diferencia claramente visible entre el índice oleico/linoleico a favor del aceite de oliva es previsible por la mayor cantidad de ácido oleico en ese aceite. La adaptabilidad de las membranas queda justificada (QUILES y cols., 2001). Por lo tanto, la observación de que todos los grupos alimentados con aceite de oliva presenten un nivel de oleico/linoleico más alto, sea cual sea la etapa de vida, demuestra un efecto adaptativo esperado para las membranas mitocondriales de corazón.

La proporción de ácidos grasos monoinsaturados es mayor en los grupos alimentados con aceite de oliva y como era de esperar, los animales alimentados con dieta cuya fuente de grasa es el aceite de girasol presentan en sus membranas mitocondriales mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados. Tales observaciones nos dicen, como conclusiones preliminares, que la adaptabilidad de las membranas, según el aporte graso, se mantiene a lo largo de la vida del animal desde que se mantenga constante el tipo de grasa administrada.

5.3 Adaptación a la suplementación dietética con CoQ₁₀ de las membranas mitocondriales cardíacas.

Además de las diferentes fuentes de grasa aplicadas en el experimento, la suplementación con CoQ₁₀ es otro factor importante a tener en consideración. Varios estudios que utilizaron tal suplementación con fin de evaluar el comportamiento corporal y su adaptación (MARASCO y cols., 1999; YOKOYAMA y cols., 1996; MATSUMOTO y cols., 1984; LITTARRU y cols., 1990; HUERTAS y cols., 1991; LENZA y cols., 1989). Las variantes en los resultados encontrados fueron muy significativas. Los niveles dependen del material biológico analizado (mitocondrias o material tisular); tipo de órgano (corazón, hígado, cerebro, etc.); la edad de las ratas; la cantidad de antioxidante administrado; del tiempo de administración y de la metodología utilizada para identificar posibles adaptaciones.

En nuestro estudio en particular observamos cantidades plasmáticas muy superiores a las encontradas en mitocondrias de corazón. Eso encaja con lo encontrado en otros estudios, una vez que el plasma se trata de un compartimiento donde es factible encontrar niveles superiores si se comparan con tejidos como el corazón que no presentan gran capacidad de regeneración. *“Kwong y cols han descrito (...) una buena adaptación a la suplementación oral de las membranas mitocondriales (...) tanto en CoQ₉ cuanto en CoQ₁₀ (...). Mantuvieron una suplementación durante 13 semanas en animales a partir de 14 meses de edad (...)”* (IBAÑEZ, 2003). Se tratan de concentraciones 50 veces superiores a la que utilizamos nosotros en nuestro experimento.

Lo interesante de la producción de CoQ₁₀ es que su fluidez por los compartimentos corporales está vinculada a la capacidad del mismo en reutilizarla en los tejidos, lo que indica un alto control de sus niveles tisulares y una alta eficiencia de las vías metabólicas para maniobrar este compuesto. Su relevancia será especificada más adelante. La adaptabilidad al modelo experimental parece ser procedente, lo que permitirá las afirmaciones que serán hechas más adelante a partir de los análisis hechos.

5.3 Composición plasmática y de las membranas mitocondriales

5.3.1 Ácidos grasos

La disminución del grado de saturación condiciona el envejecimiento de los fosfolípidos de membrana (INRE y cols., 2000). Con el paso del tiempo se observa una reducción de la fluidez de membrana de las células, debido a la alteración de su composición lipídica. Se observa una clara disminución de los ácidos grasos poliinsaturados; y un aumento del colesterol y de ácidos grasos saturados (CHEN, 1994). Se observa, en el caso de ratas ancianas, una reducción en un 28% en la concentración de cardiolipina, localizada en la membrana mitocondrial interna (PARADIES y cols., 1990). Este cambio en la composición altera la actividad de varias enzimas como la chito romo c reductazo, chito romo c oxidasa y ATP sintestasa (BARZANTI y cols., 1994).

La tendencia a que se formen membranas celulares más saturadas con el envejecimiento es patente en varios estudios, menos ricas en ácidos grasos poliinsaturados (YEHUDA y cols., 2002). Con la edad se observa un aumento de los ácidos grasos libres y del colesterol libre, exactamente de la misma forma como cuando hay una deficiencia de ácidos grasos esenciales (TERAO y cols.,1991). A parte de la disminución de la capacidad de las membranas biológicas en captar AGP, la disminución de la actividad de la desnaturasa también es un factor condicionado por el envejecimiento (OCHOA y cols., 2003). Con eso podemos afirmar que la fuente de grasa utilizada altera el comportamiento y composición de las membranas celulares de forma que nuestro estudio observó los consecutivos resultados que serán elucidados en los tópicos siguientes.

5.3.1.1 Fracción de ácidos grasos saturados (AGS)

Se puede afirmar que cuando mayor es el grado de saturación de un ácido graso mayor es la energía que se obtiene derivada de su oxidación. Partiendo de este raciocinio observamos que el organismo almacena entre sus triglicéridos una cantidad

superior de ácidos grasos saturados. El almacenamiento de ejemplares insaturados se hace necesaria debido a la importancia de rebajar el punto de fusión de los triglicéridos dada la temperatura corporal, que tiene que ser suficiente para que estén en su estado líquido (STRYER, 1995).

Efecto del envejecimiento: La constancia de la fracción lipídica de ácidos grasos saturados en las membranas de los diferentes tejidos biológicos es una observación común en varios estudios (AYRE y cols., 1996; SUAREZ y cols., 1996). Según Gibson, la alteración de la composición en las membranas sometidas a fuentes distintas de ácidos grasos se debe básicamente a la posición 1 de los fosfolípidos que presenta una propensión a ser esterificada con ácidos grasos saturados, posición esta que sufre una baja tasa de hidrólisis. En nuestro estudio en particular observamos que la variación apreciada en los niveles de ácidos grasos saturados en mitocondria de corazón fue más apreciada en los grupos que recibieron Coenzima Q, por más que se observe también un incremento menos pronunciado en los grupos que no la recibieron. En otros estudios se vio el mismo comportamiento, por más que se trataran de diferentes órganos en análisis, como el caso del cerebro (CHEN y YU, 1994) e hígado (IBAÑEZ, 2003), siendo el último un experimento de nuestro grupo de investigación. En esos estudios se defiende que la alteración de dichos niveles de AGS, de acuerdo con la evolución de la edad se debe probablemente a la capacidad adaptativa de cada órgano involucrado, a parte de la dieta recibida, de forma a encontrar los mejores niveles para su mejor funcionamiento (FELLER y cols., 2002). Con el aumento de la edad, por lo tanto, hubo un incremento en los niveles mitocondriales. Pudimos observar que los niveles plasmáticos sufrieron aumentos similares con el paso del tiempo. Esos datos reflejan que con la edad existe una tendencia a que los niveles de AGS aumenten, por más que haya sido reflejado de forma discreta en nuestro estudio.

Efecto de la dieta: Con relación a la dieta, observamos que en el caso de corazón los niveles de AGS, para mitocondria fueron más altos para los grupos que recibieron aceite de oliva como fuente de grasa y ligeramente inferiores en los grupos que recibieron aceite de girasol. En el compartimiento plasmático, sin embargo se observó lo contrario, lo que es normal una vez que los niveles plasmáticos son condicionados por la necesidad de otros compartimentos. Sin embargo esa observación que el aumento de que los niveles son más altos en los grupos que recibieron aceite de oliva como fuente de grasa plantea una duda sobre la función de la coenzima Q aliada a tal fuente grasa sobre la saturada de grasa. Tal hecho se puede deber a algún mecanismo

de compensación celular frente al estrés oxidativo generado por el envejecimiento (IBAÑEZ, 2003). Considerando tal mecanismo compensatorio, la adición o no de CoQ afectaría de forma distinta a las mitocondrias. Sin embargo, los efectos antioxidativos de dicha molécula observados en ese estudio serán elucidados más adelante. Existe por lo tanto una correlación positiva entre la utilización de CoQ, el envejecimiento y la fuente de grasa usada, sea girasol u oliva, que sufren incrementos en sus niveles.

Paralelamente se correlaciona el incremento en los niveles de AGS con el aumento proporcional de ácido mirístico ($C_{14:0}$), que se trata del ácido que presenta mayores concentraciones en las membranas mitocondriales (MARTIN, 2002); además del aumento de las concentraciones del ácido palmítico ($C_{16:0}$) en todos los grupos, sobretodo en los grupos alimentados con aceite de oliva virgen. Sin embargo, los niveles de ácido esteárico ($C_{18:0}$) se vieron disminuidos con el paso del tiempo en todos los grupos. El aumento más pronunciado del ácido mirístico, y sobretodo del ácido palmítico en los grupos que recibieron como fuente grasa el aceite de oliva, y más aún en el grupo que recibió CoQ explican el aumento mitocondrial más efusivo de AGS con el paso del tiempo en eso grupos.

De esa forma observamos que $C_{14:0}$, $C_{16:0}$ y $C_{18:0}$, juntamente con el envejecimiento y la definición de edad-dependencia de las membranas celulares que con el paso del tiempo tienen menos capacidad de incorporar ácidos grasos poliinsaturados por disminución de las desaturasas (YEHUDA y cols., 2002) explicarían los resultados encontrados para AGS en mitocondrias de corazón.

5.3.1.2 Fracción de ácidos grasos monoinsaturados (AGM)

Estudios anteriores, como el del Dr. Quiles y colaboradores, demostraron que el porcentual de ácidos grasos monoinsaturados es más proeminente en mitocondrias ratas cuya dieta presenta como fuente de grasa el aceite de oliva, en detrimento a dietas cuya fuente de grasa es el aceite de girasol, que presentan niveles inferiores. En otros modelos experimentales tales observaciones son confirmadas por varios autores (GIRÓN y cols., 1992; SEIQUER y cols., 1996). Lo que le confiere al aceite de oliva esa capacidad es su alto contenido de ácido oleico y bajo contenido de ácido linoleico, además de la capacidad de ese aceite de estimular la acción de las Δ^9

desaturasas (NAVARRO y cols., 1994; IBAÑEZ, 2003). El ácido palmítico, presente en cantidades relativamente importantes en esa fuente de grasa también contribuye para la estimulación de las funciones de dichas desaturasas. La variabilidad del contenido celular de ácidos grasos está determinada por inúmeros factores tales como la edad, el estado fisiológico, el tipo celular, la actividad metabólica, la capacidad antioxidante y la dieta.

La composición de la fuente de grasa utilizada induce modificaciones en los niveles celulares de ácidos grasos, pero depende de factores como la base genética, los sistemas de regulación metabólica, de su adaptación al medio (QUILLES y cols., 1994) y del tipo de tejido en cuestión, una vez que no se ha determinado con claridad que todos los tejidos responden de forma igual a la actividad de la grasa utilizada (SORINGER y cols., 2000).

Tomando en envejecimiento como parámetro observamos que dentro de la comunidad científica hay varios estudios que afirman que la actividad de los AGM implica en la protección contra la disminución de la actividad cognitiva asociada a la edad y con el declive de la probabilidad de sufrir un trastorno senil (YEHUDA y cols., 2002).

Efecto del envejecimiento: el incremento de los niveles de ácidos grasos monoinsaturados, sobretodo de ácido oleico, proporcionalmente al aumento de la edad, ha sido descrito por varios autores (LÓPEZ y cols., 1995). Sin embargo, otros autores como el Dr. Quiles, afirman por sus estudios que tal aumento está directamente vinculado a la fuente grasa administrada en el experimento y al tejido objeto de estudio. La proporción observada de los niveles de ácidos grasos monoinsaturados totales en mitocondrias de corazón demostraron una gran superioridad en los grupos que recibieron aceite de oliva como fuente de grasa. Sin embargo con el paso del tiempo hubo una reducción de esos niveles de forma pronunciada en el grupo que recibió aceite de oliva virgen complementada con CoQ. La cantidad específica de ácido oleico sufrió reducción semejante con el paso del tiempo en mitocondrias de corazón en grupo que además de recibir aceite de oliva recibía complementariamente la CoQ. Tales resultados coinciden con otros estudios como el de Seiquer y cols (1996) y el de Ibáñez (2003) que afirman que el ácido oleico con la edad funciona como substrato preferencial en algunas reacciones metabólicas o a algún efecto específico de la CoQ sobre el aceite de oliva virgen.

Efecto de la dieta: La activación de la Δ^9 desaturasa provocada por la

presencia de ácido oleico proveniente del aceite de oliva genera la formación de membranas biológicas ricas en ácidos grasos monoinsaturados. Eso ocurre porque el ácido graso de de dieta que se presenta de forma mayoritaria es el factor básico para que se observe cambios en la composición lipídica de las membranas. Hay por lo tanto una relación recíproca entre las desaturasas que se ven inhibidas o estimuladas de acuerdo con la composición lipídica de la dieta (SEIQUER y cols., 1996).

Varios estudios demostraron que el aceite de oliva estimula a la formación de membranas donde prospera la presencia de ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3 si comparamos con dietas ricas en aceite de girasol como fuente de grasa (GIRÓN y cols., 1992; NAVARRO y cols., 1994; ESCUDERO y cols., 1998). Se observa también una disminución en los ácidos palmítico y esteárico, y también un significativo descenso del ácido linoleico y araquidónico en plasma y otros órganos (PERIAGO y cols., 1990). Sin embargo, el aceite de oliva como fuente en la dieta estimula los contenidos de los ácidos grasos monoinsaturados en membranas y una mayor actividad de la Δ^9 desaturasa.

Los niveles de ácido oleico son prominentemente más altos en los grupos que recibieron aceite de oliva como fuente de grasa lo que nos permite afirmar que el mayor grado de ácidos graso monoinsaturados confieren a las membranas biológicas una mayor protección antioxidante ante la peroxidación lipídica una vez que el estado basales es menos susceptible al ataque de los radicales libres proveniente del envejecimiento celular (HUERTAS y cols., 1999; OCHOA y cols., 2003).

5.3.1.3 fracción de ácidos grasos poliinsaturados (AGP)

Se ha demostrado que uno de los factores que condicionan la susceptibilidad de una membrana biológica a la acción de los radicales libres es la presencia en su constitución de ácidos grasos poliinsaturados. Promueven la formación de eicosanoides una vez que los ácidos grasos poliinsaturados de las serie n-3 y n-6 son sus precursores.

La producción de eicosanoides derivados del eicosapentanoico (EPA) se produce debido a al ingesta de derivados de la serie n-3. Su acción antitrombogénica queda patente debido a que esos ácidos grasos poliinsaturados estimulan la formación de prostaciclina PGI_3 , de acción antiagregante plaquetaria y vasodilatadora. También

estimula la formación de tromboxano TXA₃, de acción proagregante y ligeramente vasoconstrictora. El EPA, juntamente con el docosahexaenoico (DHA), también inhibe la formación de la prostaciclina PGI₂, a partir del ácido araquidónico. Tal prostaciclina tiene efectos similares a la PGI₃. También inhiben el tromboxano TXA₂, vasoconstrictor y estimulador de agregación plaquetaria. Con eso queda patente su efecto antitrombogénico, lo que demuestra la importancia del aceite de pescado, tan consumido en poblaciones orientales, como china y Japón, que presentan incidencia de enfermedades cardíacas inferiores a países de cultura occidental. Este comportamiento también es similar cuando administrado el ácido oleico, proeminente en el aceite de oliva, pero con menor grado de eficacia. (NAVARRO y cols., 1992; SIRTORI y cols., 1998).

En ámbito intestinal se ha demostrado que el efecto de los eicosanoides frente a la respuesta inflamatoria beneficia en casos de enfermedad inflamatoria intestinal al cambiar el medio lipídico y por aumentar la protección contra los procesos de peroxidación lipídica. En efecto, el aceite de oliva altera las cantidades de algunos péptidos gastrointestinales (gastrina, PP, CCK, PYY) relacionados a la enfermedad, probablemente por idear niveles óptimos de dichas sustancias (YAGO y cols., 1997). *“También reduce la producción de citoquinas, la expresión de las moléculas de adhesión y los niveles de otros marcadores endoteliales en esta patología. Los ácidos grasos monoinsaturados y los compuestos fenólicos del aceite de oliva son candidatos a incrementar el umbral de apoptosis de células intestinales disminuyendo la necrosis, ejerciendo un papel protector”* (MATAIX y cols., 2001).

Efecto del envejecimiento: Con el paso del tiempo se observa una reducción de la fluidez de membrana de las células, debido a la alteración de su composición lipídica. Se observa una clara disminución de los ácidos grasos poliinsaturados; y un aumento del colesterol y de ácidos grasos saturados (CHEN, 1994). Se observa, en el caso de ratas ancianas, una reducción en la concentración de cardiolipina, localizada en la membrana mitocondrial interna (PARADIES y cols., 1990). Este cambio en la composición altera la actividad de varias enzimas como la citocromo c reductasa, citocromo c oxidasa y ATP sintetasa (BARZANTI y cols., 1994).

En nuestro experimento encontramos que los niveles de ácido grasos poliinsaturados totales en mitocondrias de corazón sufre un descenso si comparamos las ratas a los 6 y a los 24 meses en todos los grupos, a excepción del grupo que recibió aceite de girasol sin complementación con coenzima Q, donde observamos que sus

valores se mantienen prácticamente inalterados. A los 6 meses se observó claramente que los valores para AGP eran mayores en el grupo alimentado con aceite de girasol suplementados con CoQ en comparación con su homólogo sin CoQ, cambiando a los 24 meses. Los valores a los 24 meses demuestran que el grupo que recibió CoQ sufrió una reducción proeminente cuando lo comparamos con su homólogo sin CoQ, que se mantuvo prácticamente inalterado. En el caso aislado de los grupos que recibieron aceite de oliva, complementados o no con CoQ el comportamiento fue prácticamente igual entre si, sufriendo descenso en las concentraciones con el paso del tiempo de forma similar.

Considerando la serie n-6, que corresponden a la fracción cuantitativamente más numerosa, de forma aislada, observamos un comportamiento similar, con evidente disminución con la evolución de la edad en todos los grupos, también con la excepción del grupo que recibió aceite de girasol sin complementación con coenzima Q que se mantuvo constante en lo dice respecto a sus concentraciones con el paso del tiempo. Con relación al ácido linoleico el comportamiento es el mismo pero sus niveles a los 24 meses son superiores en los grupos girasol y girasol CoQ en comparación con oliva y oliva Q. Para el ácido araquidónico se observa que hubo reducción en todos los grupos, incluso en el grupo girasol, de forma que todos los grupos se sitúan con concentraciones similares a los 24 meses. Hay una reducción más pronunciada en los niveles del grupo girasol CoQ, reflejando probablemente un efecto beneficioso producido por la CoQ. Estos resultados pueden indicar que con el paso de la edad existe una disminución en la capacidad del organismo en incorporar los ácidos grasos poliinsaturados por alteraciones importantes en la fluidez de membrana, explica la relación entre la edad y la menor actividad de las desaturasas y la actuación de las lipasas que funcionan como factor de eliminación de los ácidos grasos dañados (YEHUDA y cols., 2002; IBAÑEZ, 2003). Otra posibilidad podría ser el intento del organismo, a través de un mecanismo compensatorio, en reducir las sustancias o substratos altamente susceptibles a la acción de los radicales libres, una vez que la edad implica en mayor susceptibilidad a la acción de las especies reactivas del oxígeno (QUILES y cols., 2002).

Según nuestros datos observamos que los grupos que recibieron aceite de oliva, suplementados o no con CoQ, se ven más protegidos que los alimentados con aceite de girasol. Sin embargo el nivel de protección conferido por el CoQ se ve más evidenciada en el caso del grupo que recibió aceite de girasol, una vez que con el paso del tiempo consiguió reducir los niveles de este grupo para componentes de la serie n-6

a los mismo niveles del los grupos que recibieron aceite de oliva. Eso evidencia que el grupos que recibió aceite de girasol sin CoQ pueda presentar las mayores niveles, con el paso del tiempo, de daño en la membrana mitocondrial cardiaca (LOPEZ y cols., 1995; FELLER y cols., 2002).

Para la serie n-3 observamos un comportamiento como mínimo curioso, ya que hubo alteración en sus niveles en todos los grupos. El grupo que recibió dieta con fuente de grasa de aceite de oliva sufrió una reducción con el paso del tiempo. El grupo aceite de oliva suplementado con CoQ sufrió aumento. Los grupos que recibieron aceite de girasol presentaron acrecimos. Sin embargo, los niveles finales a los 24 meses son similares en todos lo grupos a excepción del grupo que recibió aceite de oliva suplementados con CoQ, que son superiores. Eso se explica porque a los 6 meses los niveles totales de n-3 son varias veces superiores en los grupos que recibieron aceite de oliva, suplementado o no con CoQ cuando comparados con los grupos que recibieron aceite de girasol. Para el ácido docosahexanoico, solo se mantuvo sus niveles en el grupo que recibió aceite de oliva virgen suplementado con CoQ. El comportamiento de los demás grupos fue exactamente igual al de los ácidos grasos poliinsaturados totales de serie n-3.

El efecto ventajoso de la ingesta de AGPn3 se vio más evidenciada a lo largo de vida en el grupo que recibió aceite de oliva suplementado con CoQ, una vez que sus niveles incluso aumentaron. Sin embargo el simples hecho de utilizar el aceite de oliva como fuente grasa demostró que los niveles de n-3 a lo largo de la vida se presentan superiores en comparación con el aceite de girasol, mismo que en la vejez esos niveles se equivalgan, una vez que para el grupo aceite de oliva, en los periodos anteriores a la vejez, presentaron niveles muy superiores a los grupos aceite de girasol y girasol CoQ, beneficiándose por lo tanto de sus efectos (QUILES y cols., 2001).

Efecto de la dieta: Esta demostrado que los niveles de los ácidos grasos poliinsaturados, sean totales, de la serie n-6 o de la serie n-3 dependen de la fuente de grasa ingerida por los diferentes grupos. En el caso de la serie n-6, su comportamiento fue similar a la de los ácidos grasos totales. Sus niveles eran muy superiores a los 6 meses en el grupo girasol suplementado con coenzima Q. Los demás grupos presentaban niveles equivalentes. Ese hecho es sorprendente porque se esperaba que el grupo girasol no suplementado también presentara niveles más altos de ácidos grasos poliinsaturados totales y de la serie n-6 que los alimentados con aceite de oliva (SEIQUER y cols., 1996; QUILES y cols., 1999; MATAIX y cols.; 2002). Sin

embargo, esos niveles esperados son apreciados en los análisis de plasma, de forma que por algún motivo no hubo un redireccionamiento desde el plasma hasta las mitocondrias de los ácidos grasos poliinsaturados totales y de la serie n-6 como suele ocurrir como otras sustancias con las vitaminas.

Como mencionado, la serie n-6 y los ácidos grasos poliinsaturados totales se comportaron de forma similar, de forma que el único grupo que no sufrió reducción de sus niveles con el paso del tiempo fue el grupo que recibió aceite de girasol no suplementado con CoQ, terminando con niveles superiores a los demás grupos. Todos los demás sufrieron reducción, con mención especial para el grupo girasol CoQ, lo que evidencia la acción protectora conferida por el CoQ para las mitocondrias de corazón.

Para la serie n-3 observamos que los niveles fueron equivalentes en los grupos girasol, girasol CoQ y oliva virgen a los 24 meses. Sin embargo a los 6 meses el grupo oliva virgen mostraba los efectos beneficiosos de la serie n-3 por presentar niveles varias veces superiores a los grupos girasol y girasol CoQ. Lo más extraordinario fue el grupo oliva virgen CoQ, que a parte de presentar niveles equivalentes a su homólogo sin coenzima a los 6 meses, consiguió beneficiarse de la serie n-3 al aumentar con el paso del tiempo sus niveles membranares a los 24 meses (QUILES y cols., 1999; MATAIX y cols., 2001).

Para los ácidos linoleico, araquidónico y docosahexanico dependió de la fuente de grasa ingerida en la dieta. Para el grupo girasol sin complementación con CoQ no hubo prácticamente reducción en los niveles de linoleico, sin embargo para su homólogo suplementado con CoQ si. Los grupos alimentados con aceite de oliva suplementados o no con CoQ sufrieron disminución similar entre si. La disminución de los niveles de ácido araquidónico fueron similares a los del linoleico con la diferencia de que con el envejecimiento los niveles de linoleico son superiores en los grupos alimentados con aceite de girasol en comparación con aceite de oliva virgen y equivalentes en todos los grupos en el caso del ácido araquidónico.

Se esperaba en un principio que los niveles de linoleico y araquidónico fueran superiores a los 6 meses en los grupos girasol CoQ y girasol. Sólo se observó ese factor en el grupo girasol CoQ. Sin embargo, volvemos a mencionar que tanto para el ácido araquidónico, como para el linoleico, se esperaba que el grupo girasol no suplementado también presentara niveles más altos que los alimentados con aceite de oliva a los 6 meses en mitocondrias de corazón (SEIQUER y cols., 1996; QUILES y cols., 1999; MATAIX y cols., 2002). Eso se aprecia en los análisis de plasma, de forma

que por algún motivo no hubo un redireccionamiento desde el plasma hasta las mitocondrias de los ácidos grasos poliinsaturados totales y tampoco para los de la serie n-6. .

En el caso del doxohexanoico se encontró una menor concentración en la mitocondrias de los animales alimentados con aceite de girasol como fuente de grasa en comparación con los grupos que recibieron aceite de oliva, sobretudo a los 6 meses. Esa situación fue reflejada en otros estudios (PERIAGO y cols., 1990). Existe una inhibición por parte de los derivados del ácido linoleico ($C_{18:2n-6}$) sobre los ácidos grasos poliinsaturados de serie n-3 al saturar toda la actividad de la Δ^6 desaturasa lo que explica su baja concentración a los 6 meses en los grupos alimentados con aceite de girasol (NAVARRO y cols., 1994; QUILES y cols., 1999). A partir de esa observación, la disminución de las cantidades del ácido linoleico en las mitocondrias de corazón con el tiempo explica el aumento de las concentraciones de n-3 totales y consecuentemente de dexahexanoico en los grupos alimentados con aceite de girasol como fuente de grasa. También hubo un redireccionamiento de los niveles plasmáticos de n-3 totales y dexahexanoico desde el plasma hasta las mitocondrias de corazón. El aumento de la concentración mitocondrial en el caso de n-3 totales o la manutención de la concentración de dexahexanoico también podría basarse en ese principio. Sin embargo, paradójicamente hubo una disminución en los niveles de n-3 totales en el grupo oliva no suplementado con CoQ con el paso del tiempo. Se puede deber una vez más al hecho de que por algún motivo no hubo un redireccionamiento desde el plasma hasta las mitocondrias de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 totales y dexahexanoico. Esos niveles esperados son apreciados en los análisis de plasma una vez que para ese compartimiento se observa que tanto los niveles de ácidos grasos poliinsaturados n-3 totales cuanto en de docosahexanoico son los más consistentes.

La relación existente entre el contenido de AGP de la serie n-6 y el contenido de AGP de la serie n-3 en los distintos grupos experimentales es superior en el aceite de girasol debido al hecho que de presentar niveles superiores de AGPn6 en comparación el aceite de oliva virgen, y más concretamente de ácido linoleico. Con el paso del tiempo esa relación disminuye en el grupo que recibió como fuente grasa el aceite de girasol. Otros autores se encontraron con situaciones similares (IMRE y cols., 2000; LOPÉZ y cols., 1995; IBANEZ, 2003). Según Quiles, la ingesta de EPA y DHA proveniente del aceite de oliva permite que encontremos proporciones menores de AGPn6/AGPn3 en plasma, exactamente como observado en nuestro estudio de forma

que se observa un efecto benéfico antitrombogénico para el sistema circulatorio, además de que el incremento de AGPn3 incrementa la síntesis de eicosanoides antiinflamatorios y inhibe la síntesis de eicosanoides proinflamatorios.

5.4 Estudio del contenido mitocondrial en moléculas antioxidantes.

5.4.1 Coenzima Q

La utilización de la CoQ en nuestro experimento se justifica en primer lugar debido al hecho de tratarse de un componente de cadena de transporte electrónico mitocondrial y por su efecto antioxidante importante (HUERTAS y cols., 1999).

“Los dos antioxidantes liposolubles más importantes: la CoQ y el alfa-tocoferol son más eficientes cuando actúan en forma conjunta. La CoQ además de ser por si misma un importante antioxidante, es un potente regenerador del alfa tocoferol a partir del radical tocoferilo.(...) Adicionalmente, esta molécula se halla directamente involucrada en el mecanismo de translocación unido al sistema redox de protones del complejo III (complejo citocromo bc1) y, posiblemente, al complejo I. Una alteración en el estado redox de la CoQ puede, por lo tanto, reflejar tanto un cambio en la cadena de transporte de la membrana, como en la efectividad de la defensa antioxidante contra las especies reactivas del oxígeno, como el peróxido de hidrógeno y en superóxido” (Extractos de la "Second Conference of the International Coenzyme Q10 Association, 2000).

En algunos estudios fue observado que existe una predisposición a que los niveles plasmáticos de CoQ se alteren porque hay una redistribución de este hasta los órganos que más lo necesitan (QUILES, 1995). *“(…) Sobre la base de su capacidad productora de energía, la CoQ ha sido utilizada en el tratamiento de una variedad de afecciones, entre ellas: neuropatías, miopatías, perturbaciones inmunológicas y el síndrome de fatiga crónica. (...) En un modelo canino de isquemia cardiaca, el tratamiento previo con CoQ₁₀ redujo el daño de reperfusión y suprimió en forma total la producción de malondialdehído –uno de los productos de la peroxidación lipídica.. Estos resultados señalan que la CoQ posee una potente acción antioxidante in vivo”.*

(MARASCO y cols., 1999).

En análisis de microscopía electrónica de corazones tratados con ubiquinona reveló niveles bajos fosfato de calcio en la matriz intramitocondrial de células de corazones, lo que evidencia una prevención cuanto a la sobrecarga de calcio (MATSUMOTO y cols., 1984).

Cuanto al envejecimiento, algunos estudios demostraron que los niveles más altos de CoQ₁₀ se producen en los humanos en la edad aproximada de 20 años, presentando un declive con el paso del tiempo, lo que indica su relación con patologías asociadas a él cuando de la incapacidad del organismo de mantener los niveles de CoQ₁₀ y de sus defensas antioxidantes.

La dieta también puede influenciar los contenidos de CoQ₁₀ y CoQ₉ como demostrados en algunos estudios, sobretodo por la adaptación de las membranas mitocondriales cuanto a su composición. Eso se debe, porque según la composición las membranas están más predispuestas a sufrir daño oxidativo. (...) *En un modelo canino de isquemia cardiaca, el tratamiento previo con CoQ10 redujo el daño de reperusión y suprimió en forma total la producción de malondialdehído –uno de los productos de la peroxidación lipídica.. Estos resultados señalan que la CoQ posee una potente acción antioxidante in vivo*”. (MARASCO y cols., 1999).

En situaciones de estrés oxidativo, donde el plasma es sometido a un estrés oxidativo, observamos que la primera sustancia antioxidante a ser consumida es la ubiquinona. Se le asigna a la CoQ₁₀ un papel importante en la prevención de la iniciación o propagación de la peroxidación lipídica en el plasma y en las lipoproteínas de membrana. Además, cuando hablamos de daño a las bases nucleicas del ADN, se comprueba su acción protectora durante tal oxidación.

En nuestro experimento, utilizamos una cantidad de 60mg/kg de CoQ en la dieta durante 24 meses y consideramos que nuestros resultados son como mínimo curiosos.

Efecto del envejecimiento: En plasma, en todos los grupos, independiente de la dieta, hubo un aumento en las concentraciones de CoQ₉, CoQ₁₀, y por lógica, cuando efectuamos la suma para la determinación de concentración total de CoQ (CoQ₉ + CoQ₁₀) también hay aumento. El aumento más notable, con el paso del tiempo, ocurrió en todos los casos en el Grupo VQ, que presentó valores espectacularmente superiores, seguido de GQ; V y G. En mitocondrias también observamos aumento con el paso del tiempo en todas las concentraciones de CoQ₉, CoQ₁₀, y en la suma para la

determinación de concentración total de CoQ ($\text{CoQ}_9 + \text{CoQ}_{10}$). Sin embargo, para V y G fueron más pronunciados. El aumento del contenido mitocondrial de CoQ_9 y CoQ_{10} con el paso del tiempo parece deberse al aumento progresivo de la necesidad de protección ante el estrés oxidativo (LENAZ, 1998). Otra posibilidad podría ser un efecto secundario provocado por el acumulo de lípidos relacionado con el avance de la edad. El coenzima Q es sintetizado utilizando el mismo camino metabólico de la síntesis del colesterol (RICHER y cols., 1993). Otra posibilidad podría ser la necesidad del organismo en incrementar su utilización con transportador electrónico mitocondrial, ya que existe una disminución de la capacidad metabólica con la edad (IBAÑEZ, 2003)

Efecto del tratamiento dietético: Se ha demostrado en otros estudios que el grado de saturación de la fuente grasa aplicada en las dietas es fundamental para que haya cambios en los contenidos de CoQ en los diferentes tejidos corporales (HUERTAS y cols., 1991; QUILES y cols., 1999). La insaturación y perfil lipídico de las membranas mitocondriales condiciona la susceptibilidad a los RL por su estado oxidativo celular. La fuente de grasa dietética y su posible influencia sobre el contenido mitocondrial se tiene que tomar en cuenta en cualquier estudio. En plasma, a los 6 meses, observamos concentraciones significativamente superiores para CoQ_{10} en ambos grupos que la recibieron (VQ y GQ). A los 24 meses, el efecto fue similar, sin embargo el grupo VQ posee concentraciones espectacularmente mayores que los demás grupos. Para CoQ_9 hubo una tendencia, pero poco significativa, a que los niveles fueran superiores en los grupos que recibieron CoQ_{10} . Observamos que los niveles tanto de CoQ_9 cuanto en CoQ_{10} fueron mucho más altos en grupo VQ a los 24 meses, representando una clara diferencia estadística con relación a los demás grupos. La cantidad total de coenzima Q ($\text{CoQ}_9 + \text{CoQ}_{10}$) reflejó en plasma a los 6 meses una cantidad superior en GQ, donde se observó diferencia estadística en comparación a los demás grupos. En VQ también se observó una cantidad superior en comparación con G y cercana a V. A los 24 meses, sin embargo, VQ presentaba concentraciones muy superiores a los demás grupos, seguido por GQ. De esa forma, podemos decir que el comportamiento de la CoQ, en todas sus formas, presentó niveles a los 6 meses superiores, para plasma, en GQ, y a los 24 meses en VQ. En mitocondrias a los 6 meses hubo una tendencia a que VQ y GQ se posicionaran con mayores cantidades. A los 24 meses los grupos que no recibieron suplementación (G y V) tienen concentraciones más grandes y presentan diferencias significativa cuando comparados con su homólogos suplementados. La observación de que las dietas monoinsaturadas influyen

positivamente en los niveles de CoQ es patente, de forma que es normal que observemos que los grupos alimentados con oliva Virgen presenten valores superiores de esta coenzima frente a los alimentados con aceite de girasol (QUILES y cols., 1999). Ese efecto en menor grado, también puede ser explicado una vez que es de esperar que las fuentes de grasa monoinsaturadas sean menos susceptibles al estrés oxidativo.

En resumen, si asociamos el envejecimiento al tratamiento dietético observamos que por más que las concentraciones aumentaran tanto en plasma, como en mitocondria con el paso del tiempo. En plasma los grupos suplementados tuvieron un aumento más pronunciado, con ventaja para el VQ sobre el GQ; y que los grupos V y G vienen a continuación en ese orden. Los grupos que recibieron aceite de oliva virgen cuando, por lo tanto, según nuestros resultados, presentaron más facilidad en retener el CoQ. Sin embargo, en mitocondrias, ese aumento fue al revés, ventaja en el aumento para GQ sobre VQ; y que las cantidades de G y V fueron muy superiores a los grupos suplementados, pero equivalentes entre si. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la concentración de CoQ en mitocondria de corazón y en plasma, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. En nuestro caso en particular, entendemos que las concentraciones de CoQ en plasma fueron superiores en los grupos que recibieron la suplementación (VQ y GQ) y superiores en mitocondrias en V Y G debido a la capacidad corporal de redistribuir dicha substancias de acuerdo con las necesidades de los varios compartimentos corporales. Tal hecho nos hace creer que con el avance de la edad, los grupos que no recibieron complementación durante la juventud y adultez tienen más necesidades de CoQ en la vejez en el tejido cardíaco, lo que hace que se produzca tal desplazamiento del plasma a las mitocondrias de corazón. Esa afirmación es importante, porque como se demostró en otros estudios, como el del Dr. Marasco, que su fluidez por los compartimentos corporales esta vinculada a la capacidad del mismo en reutilizarla en los tejidos, lo que indica un alto control de sus niveles tisulares y una alta eficiencia de las vías metabólicas ara maniobrar este compuesto. De esa forma la suplementación con CoQ necesita ser elucidada con más claridad en lo que dice respecto al mantenimiento de sus concentraciones. Inicialmente se pensaba que la biosíntesis endógena era la principal fuente aportadora de dicha coenzima y que la mayoría de los tejidos, a excepción de hígado, bazo y plasma eran resistentes a la suplementación oral (IBRAHIN y cols., 2000). La discrepancia entre varios autores quedó más resuelta con la demostración de que con la suplementación prolongada son

eminentes los incrementos en los niveles de CoQ en varios órganos como cerebro, músculo, corazón, etc. (KWONG y cols., 2002).

5.5.2 α -Tocoferol

Además de la acción de los antioxidantes suplementados a la dieta, como el posible caso de nuestro protagonista en discusión, utilizados como auxiliares en la prevención de la peroxidación lipídica, existen otros antioxidantes endógenos, integrantes de la cadena de transporte electrónico y otros exógenos provenientes de la alimentación que pueden desencadenar un mayor o menor grado de protección a nivel celular. Algunos de ellos fueron determinados en nuestros estudios de forma que aportan informaciones muy importantes.

El alfa-tocoferol, así como otros antioxidantes, actúa impidiendo la cascada de propagación de la peroxidación lipídica a través de una neutralización directa de los radicales libres al transformarlos en compuestos no radicales. La vitamina E actúa sobre radicales peróxidos y los convierte en hidroperóxido hiporreactivo, bloqueando la reacción de peroxidación lipídica en las membranas celulares (PACKER; 1999). Actúa protegiendo los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas biológicas de la acción de la peroxidación lipídica, y según varios autores una molécula de α -tocoferol es capaz de promover la protección de 60 a 300 moléculas de AGP (MATAIX y cols., 1998; OCHOA y cols., 2001).

En nuestro estudio observamos que hubo un aumento significativo de la concentración de α -tocoferol independientemente de la fuente grasa. Sin embargo, su determinación en plasma y mitocondrias de los órganos analizados hizo con que verificásemos situaciones distintas para cada uno. Primeramente la concentración plasmática es muy superior a la mitocondrial.

Efecto del envejecimiento: En plasma, en todos los grupos, independiente de la dieta, hubo un aumento en las concentraciones de α -tocoferol. El aumento más notable, con el paso del tiempo, ocurrió en el grupo VQ, que presentó valores espectacularmente superiores, seguido de V; GQ y G, sucesivamente. En mitocondrias también observamos aumento con el paso del tiempo en todas las concentraciones de α -tocoferol. Sin embargo, para V y G fueron más pronunciados.

Efecto del tratamiento dietético: Las concentraciones en plasma a los 6 meses se hicieron menores en los grupos que no recibieron CoQ. Es interesante porque el grupo que recibió aceite de girasol como fuente dietética presentaba niveles más altos que los que recibieron aceite de oliva, sin embargo sin diferencias estadísticas entre los grupos. A los 24 meses observamos un cambio de situación, donde el grupo que tenía aceite de oliva como fuente de grasa presenta mayores niveles de α -tocoferol. A los 24 meses existe una única diferencia estadística entre VQ y los demás, una vez que fue el grupo que presentó niveles preponderantemente superiores a los demás grupos. En mitocondrias, a los 6 meses, los grupos suplementados con CoQ (VQ y GQ) presentaron valores mayores pero sin diferencia significativa. A los 24 meses los grupos que no recibieron suplementación con CoQ presentaron concentraciones notablemente superiores cuando comparados con VQ y GQ reflejado con una proeminente diferencia estadística.

En resumen, si asociamos el envejecimiento al tratamiento dietético observamos que las concentraciones aumentaron tanto en plasma, como en mitocondria con el paso del tiempo. En plasma los grupos que recibían aceite de oliva virgen como fuente de grasa en la dieta tuvieron un aumento más pronunciado, con ventaja para el VQ sobre el V; y que los grupos GQ y G vienen a continuación en ese orden. Los grupos que recibieron aceite de oliva virgen cuando, por lo tanto, inmovilizaron mayores cantidades de α -tocoferol. Sin embargo, en mitocondrias, ese aumento fue al revés, las concentraciones en los grupos G y V fueron muy superiores a los grupos suplementados, estadísticamente relevante con relación a GQ y VQ, pero equivalentes entre sí. Los grupos que recibieron CoQ también mantuvieron equivalencia entre sí. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la concentración de α -tocoferol plasma, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo. En mitocondria, sólo influenciaron el tiempo y la interacción tiempo tratamiento dietético. El supuesto redireccionamiento de alfa-tocoferol desde el plasma, permitiendo que más cantidades de la sustancia en cuestión sean redireccionada a los órganos que la necesitan es inminente. Los dos antioxidantes liposolubles más importantes: la CoQ y el alfa-tocoferol son más eficientes cuando actúan en forma conjunta. La CoQ además de ser por sí misma un importante antioxidante, es un potente regenerador del alfa tocoferol a partir del radical tocoferilo.

Como mencionado arriba, el daño oxidativo por la peroxidación lipídica

suele ser más pronunciado en los grupos que no reciben antioxidante, de forma que se espera que el organismo administre sus defensas con más intensidad a los órganos que más daño están sufriendo. En nuestro caso en particular, entendemos que las concentraciones de α -tocoferol en plasma fueron superiores en el grupo VQ y superiores en mitocondrias en V Y G debido a su redistribución de acuerdo con las necesidades de los varios compartimentos corporales. Tal hecho nos hace creer que con el avance de la edad, los grupos que no recibieron complementación durante la juventud y adultez tienen más necesidades de α -tocoferol en la vejez en el tejido cardíaco, lo que hace que se produzca tal desplazamiento del plasma a las mitocondrias de corazón.

5.5.3 Retinol

La retina es una membrana del ojo constituida por la expansión del nervio óptico con la función de " formar" la imagen de los objetos. Semejantemente a una máquina fotográfica, la retina sería la " película" de los ojos. En el fenómeno de la visión, la rodopsina es una sustancia que ejerce el papel de aumentar de sensibilidad de la retina a la luz (GUYTON, 1998).

Cuando un individuo pasa de un ambiente claro a la oscuridad, la visión se queda "temporalmente deslumbre". Después de algunos segundos, correspondiendo a la formación del rodopsina en el ojo, la visión se pone más clara. Sin embargo, cuando un individuo se disloca de una posición oscura para otra clara, observamos, por acción de la luz, la destrucción del exceso de rodopsina, que hipersensibiliza la retina y, así, la visión vuelve el habituarse con el brillo.

Concluyendo, podemos afirmar que la rodopsina es un pigmento imprescindible a la adaptación de la visión a las varias situaciones de cambios luminosos. Su formación, sin embargo, depende de la presencia de la vitamina A. Los individuos carentes de esa vitamina presentan la llamada hemeralopia que es caracterizado por la adaptación mala de la visión en situaciones donde la iluminación es deficiente. (GUYTON, 1998).

Cuando la falta de la vitamina puede promover, con el pasar del tiempo, una situación de lesión progresiva de la córnea (membrana translúcida del ojo), donde se observa un espesamiento y una ulceración de la membrana, además de una reducción de

actividad de las glándulas lacrimales. Se puede formar un cuadro clínico de xeroftalmia, que puede desarrollar una evolución de la deficiencia visual hasta una ceguera total. La deficiencia de la vitamina A también promueve alteraciones a nivel de cutis. La piel se pone áspera, surgiendo descamaciones que aparecen primeramente en los miembros superiores, extendiéndose para todo el cuerpo entero. La falta de la vitamina puede, aún, hacer con que niños en la edad de crecimiento, tengan ese crecimiento paralizado. (GUYTON, 1998).

El retinol desempeña papel importante como protectora del organismo, por su acción antioxidante, el retinol. El comportamiento del retinol en plasma fue similar al ocurrido con el alfa-tocoferol.

Efecto del envejecimiento: En plasma, en todos los grupos, independiente de la dieta, hubo un aumento en las concentraciones de retinol. El aumento más notable, con el paso del tiempo, ocurrió en el grupo VQ, que presentó valores espectacularmente superiores, seguido de V; GQ y G, sucesivamente.

Efecto del tratamiento dietético: Las concentraciones en plasma a los 6 meses fueron prácticamente iguales en todos los grupos. A los 24 meses observamos un cambio de situación, donde el grupo que tenía aceite de oliva como fuente de grasa presenta mayores niveles de retinol. A los 24 meses existe diferencia estadística entre VQ y los demás y entre V y los demás.

En resumen, si asociamos el envejecimiento al tratamiento dietético observamos que las concentraciones aumentaron en plasma con el paso del tiempo. Hubo ventaja para el VQ sobre el V; y los grupos GQ y G vienen a continuación en ese orden. Los grupos que recibieron aceite de oliva virgen inmovilizaron mayores cantidades de retinol. El análisis de varianza de dos vías demostró que todos los factores condicionaron la concentración de retinol en plasma, o sea, el tiempo, el tratamiento dietético y la interacción entre tratamiento dietético y tiempo.

Como para el α -tocoferol, se espera que el organismo administre las reservas de retinol con más intensidad a los órganos que más daño están sufriendo. En nuestro caso en particular, no podemos comparar la concentración a nivel de mitocondrias, porque no pudimos definir sus concentraciones en ese tejido de forma que sólo podemos conjeturar diciendo que es probable que se comporte como los demás antioxidantes.

5.6 Estrés oxidativo en función de la dieta y del envejecimiento

5.6.1 Daño oxidativo a mitocondrias y lípidos (peroxidación lipídica).

El fenómeno de la lipoperoxidación ocurre debido a la conformación bioquímica de las moléculas grasas que *“poseen tres o más uniones carbono-carbono con doble ligadura, que les confiere una zona de enlace lábil que permite que una molécula activa como el OH les sustraiga un átomo de H”* (LLESUY, 1999). El proceso en sí es dividido en tres etapas distintas.

La primera, la iniciación, en la que el hidrógeno es retirado de su ligación con el carbono por un radical libre (HO \cdot), formando un radical lipídico o radical de ácido graso (R \cdot). En realidad, el inicio de la lipoperoxidación es iniciada por el ataque de cualquier especie química capaz de retirar un átomo de hidrógeno de un lípido, más específicamente de un metileno.

En la fase de propagación, observamos que el radical lipídico se une a un compuesto oxígeno resultando en la formación de un lipoperóxido (ROO \cdot). *“Este peróxido puede retirar un nuevo hidrógeno de otro carbono molecular. De esta manera, persiste el proceso autocatalítico que convierte el carbono del ácido graso de los fosfolípidos de membrana en hidroperóxido”*. (LLESUY, 1999). La presencia de malonaldehído confirma que dietas con un alto contenido de lípidos inducen a la peroxidación y degradación fosfolipídica de mitocondrias y microsomas (HUERTAS, 1991). El malondialdehído es el segmento final de la oxidación lipídica. De hecho, podemos afirmar que existe un orden secuencial de producción de sustancias derivadas de ese proceso. Tenemos, en orden de producción, los dienoconjugados, los hidroperóxidos, además de otros productos, hasta que se produce, por fin, el malonaldehído. Podemos observar que la vitamina E, la coenzima Q y la glutatión peroxidasa son antagonistas a ese proceso. La lipoperoxidación puede ser considerada una consecuencia propia del estrés oxidativo, que produce un daño considerable a las paredes de las arterias, daño ese característico de la aterosclerosis.

En nuestro estudio evaluamos la formación de hidroperóxidos basales (T_0) inducidos (T_1) y la diferencia entre ellos ($T_1 - T_0$) que representa la susceptibilidad a la peroxidación y el nivel real de protección de las mitocondrias.

Efecto del envejecimiento: con el paso del tiempo observamos aumento en la

cantidad de hidroperóxidos basales para el grupo V y G; siendo que el segundo presentó diferencia estadística con su equivalente si comparamos sus niveles a los 6 y 24 meses. El grupo GQ mantuvo un nivel constante y hubo reducción estadísticamente importante en el grupo VQ a los 24 meses.

Cuando se indujo la peroxidación hubo aumento con el tiempo en el grupo V y G en el período de 6 a 24 meses; con diferencia significativa en el grupo G y su equivalente. El grupo GQ sufrió una pequeña disminución y VQ siguió bajando con el paso del tiempo presentando diferencia estadística con su equivalente a los 24 meses.

Cuanto a la susceptibilidad a la peroxidación, con el paso del tiempo observamos aumento en los grupos V y Q; y disminución en los grupos VQ y GQ. En VQ el efecto protector es más pronunciado.

Con relación al contenido en sustancia del ácido tiobarbitúrico (TBARS) observamos aumento en todos los grupos de forma básicamente similar, por más que a los 6 meses en orden diferencial era de forma creciente VQ; G; V y GQ y terminó a los 24 meses, también de forma creciente; en VQ; G; GQ y V. Hubo diferencia entre 6 y 24 meses para todos los grupos.

Efecto del tratamiento dietético: a los 6 meses observamos que no hubo diferencia estadística entre ningún grupo en el análisis de hidroperóxidos basales. Los mayores niveles se presentaron en GQ; seguido de V y VQ (índices prácticamente iguales) y por último G. A los 24 meses V y G presentaron niveles básicamente iguales, con ventaja pequeña para G, mientras GQ no sufría acrecimos y se mantenía casi constante y VQ con nivel mucho menor.

A los 6 meses para la determinación de hidroperóxidos inducidos, GQ y VQ tenían los mayores niveles; mientras los grupos V y Q los menores. No había, sin embargo diferencia estadística entre ningún grupo. A los 24 meses los niveles de los grupos V y Q eran los más altos, en seguida venía con concentraciones menores el grupo GQ con diferencia significativa importante. El grupo VQ presentaba los menores valores y significativamente inferior, lo que le proporcionaba diferencia estadística sobre todos los grupos.

De ese modo la susceptibilidad a la peroxidación a los 6 meses tenía su menores valores en el grupo V, estadísticamente de los grupos; seguido sucesivamente por G; y por VQ y GQ (que eran prácticamente iguales). Solo había diferencia estadística entre V en relación a VQ y GQ. A los 24 meses cambiaba la situación, de forma que VQ poseía los menores índices, seguidos por GQ y V, que eran casi iguales,

y por fin por G.

Con relación al contenido en sustancia del ácido tiobarbitúrico (TBARS) observamos a los 6 meses los niveles eran parecidos; y a los 24 meses el aumento fue lineal de forma que aumentaron de forma equivalente, de modo que no hubo diferencia estadística.

En resumen, si asociamos el envejecimiento al tratamiento dietético, observamos que las concentraciones basales de hidroperóxidos eran superiores a los 6 meses en los grupos que recibían la suplementación con CoQ pero que se redujeron se redujeron en VQ; se mantuvieron constantes en GQ y aumentaron en V y G a los 24 meses. Cuando inducidos, la misma reducción se observó en el grupo VQ; y también en GQ; viéndose aumentado sin embargo en V y G. La susceptibilidad, por lo tanto que era mayor en un primer momento en GQ y VQ (prácticamente iguales); y menor en V y G; se invirtieron con el paso del tiempo demostrando el aumento de la protección mitocondrial cardíaca.

El daño oxidativo mediado por especies como O_2^- y H_2O_2 es excesivamente grande. Promueve “la oxidación de lípidos esenciales, a partir de la reacción en cadena de lipoperoxidación, pueden verse afectados los componentes de la cadena respiratoria y el DNA contenido en la mitocondria. De tal manera que la localización de las enzimas antioxidantes con relación a la mitocondria es importante” (ALVAREZ y cols., 2000). Así, afirmamos que la longevidad de las mitocondrias es menor cuanto mayor sea presencia de ácidos grasos poliinsaturados, de forma que cuanto mayor la insaturación, más grande es el grado de peroxidación. (MATAIX y cols., 1991). A partir de esa afirmación y de los analices observamos una clara ventaja del aceite de oliva sobre el aceite de girasol con el paso del tiempo, de forma que hubo una menor formación de hidroperóxidos en el grupo VQ en relación a GQ y una ventaja entre V en relación a G. También consideramos que los grupos que recibieron suplementación con CoQ presentan más protección cuanto a la lipoperoxidación. A partir de tal afirmación podemos afirmar que la acción de los llamados antioxidantes es aditiva y sinérgica basándose en la interacción con el sistema redox (oxidorreducción) y no redox, y se hacen presentes en medio acuoso y lípido. Puesto eso, podemos decir claramente que la Coenzima Q_{10} contribuyó de forma estratégica para el control de la producción hidroperóxidos en los grupos que la recibieron. Para TBARS ese efecto no fue visible.

5.7 Daño oxidativo al ADN de linfocitos de sangre periférica en función del envejecimiento y de la dieta

Algunas enfermedades humanas están directamente relacionadas con la presencia de los radicales libres. El daño de biomoléculas, entre ellas del ADN se observa cuando hay una generación garrafal, sean por fuentes endógenas como exógenas de dichas sustancias (CHANCE y cols., 1979). *“El daño oxidativo es una consecuencia del metabolismo respiratorio normal y es causado por radicales libres producidos a partir del oxígeno molecular (O_2). Durante la reducción del oxígeno, a través de una serie de pasos univalentes, se puede generar anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo ($\cdot OH$) y agua (H_2O)”* (VALDEZ y cols.; 1999).

La interacción entre la RL y el ADN se procesa a nivel del soporte azúcar-fosfato, de la misma forma que con las bases, causando la *“fragmentación del azúcar y la pérdida de una base con parte del residuo del azúcar que aún permanece unido y al corte de la cadena”* (VALDEZ y cols., 1999) o dañando las bases timina y adenina (IMLAY y cols., 1988).

Las fuentes exógenas también desempeñan papel importante. La radiación ionizante, cuando en contacto con el medio celular, y consecuentemente los tejidos corporales pueden inducir a la formación de OH. El rayo de acción o daño producido es similar al provocado por los RL (ISABELLE y cols., 1995).

El sistema de reparación corporal presenta células, en su caso enzimas, que son capaces de remover las bases dañadas oxidativamente de ADN (por ejemplo en el caso de las bases glicosiladas). Como ya mencionado, tales enzimas celulares como la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peroxidasa o la glutatión reductasa limitan tal daño oxidativo, sin embargo *“las membranas celulares no son aparentemente obstáculo para los agentes oxidantes, ya que la liberación de especies reactivas del oxígeno formadas en leucocitos pueden inducir roturas de cadenas del ADN de células vecinas”* (VALDEZ y cols., 1999).

Específicamente, en el caso de la mitocondrias, podemos mencionar que muchos *“estudios de patologías causadas por mutaciones del ADN_{mit} sugieren que una variedad de enfermedades degenerativas puede estar asociada con defectos en la fosforilación oxidativa. Se han identificado una serie de alteraciones del ADN_{mit} que*

incluyen mutaciones por sustitución de bases, inserciones, deleciones, mutaciones nucleares que predisponen a las células a las deleciones del ADN_{mit} y a alteraciones del número de copias del ADN_{mit}” (VALDEZ y cols., 1999). Esas observaciones permitieron el desarrollo de teorías para el envejecimiento y su relación con algunas enfermedades degenerativas relacionadas con la edad (WALLACE y cols., 1992). “Una de las posibles causas de la menor eficiencia (relacionada con la edad) de la fosforilación oxidativa como también de la alta velocidad de mutación del ADN_{mit} sería debida al daño del ADN_{mit} por radicales libres del oxígeno” (VALDEZ y cols., 1999).

Como ya mencionado con anterioridad, cerca de 4% del oxígeno consumido se convierte en EROS. Por intermedio de enzima superóxido dismutasa, el O₂⁻ es convertido a H₂O₂, que en presencia de metales de transición genera OH (FRIDOVICH, 1975).

Estas especies reactivas del oxígeno generadas en la mitocondria, pueden dañar las membranas mitocondriales, proteínas y ADN. El ADN_{mit} parece ser un blanco común para el daño por radicales libres. Así, el daño oxidativo del ADN_{mit} es 16 veces superior al del ADN_n. Por otro lado, el papel de los oxidantes en la formación de deleciones a nivel del ADN_{mit} se basa en la observación de que la doxorubicina, un compuesto que estimula la producción de oxidantes mitocondriales, crea un marcado aumento de las deleciones mitocondriales en tejido cardíaco; este efecto es bloqueado por ubiquinona, un componente clave de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, cuya forma reducida (ubiquinol) exhibe propiedades antioxidantes” (VALDEZ y cols., 1999).

En nuestros estudios determinamos el daño oxidativo en linfocitos de sangre periférica utilizando la técnica del comet.

Efecto del envejecimiento: con el paso del tiempo observamos aumento del daño en ADN en todos los grupos. Observamos diferencia estadística entre todos los grupos en los análisis de 6 y 24 meses. En orden creciente observamos menor nivel de daño en el grupo VQ; seguido de GQ y V, que presentan valores prácticamente iguales; y por último, y con mayor daño el grupo G.

Efecto del tratamiento dietético: a los 6 meses observamos que hubo diferencia estadística entre G y todos los demás, presentando niveles más altos. V y GQ no presentaron diferencia entre si. VQ presentó diferencia con todos los grupos, presentando los valores más bajos. A los 24 meses se observó el mismo

comportamiento, pero todos los grupos presentaban niveles más altos de daño.

En resumen, si asociamos el envejecimiento al tratamiento dietético, observamos que el daño oxidativo en ADN de sangre periférica eran superiores a los 6 meses en los grupos que no recibían la suplementación con CoQ, sin embargo entre GQ y V los valores fueron muy próximos, y en VQ muy inferior. Aumentaron a los 24 meses en todos los grupos, pero se mantuvo el comportamiento y las mismas diferencias estadísticas entre los grupos.

Con eso, parece ser que la suplementación con CoQ produce un efecto protector cuando al la generación de daño al ADN de linfocitos de sangre periférica. Otros estudios, incluyendo estudios de nuestro grupo de estudio (QUILES y cols., 2002), demostraron que los antioxidantes condicionan el daño al ADN. Describe que el CoQ aumenta el grado de reparación del ADN como consecuencia de la inhibición del daño adicional, protegiendo las células de una oxidación posterior. La acción antioxidante del CoQ explica el comportamiento de los resultados obtenidos. La capacidad de protección al ADN por el CoQ permite que se produzca un efecto de orden y condensación de las membranas, restringiendo la formación de radicales libres potencialmente dañinos al ADN celular (TOMASSETI y cols., 2001).

5.8 Morfología y sus cambios durante en proceso de envejecimiento mitocondrial

Con el desarrollo del microscopio electrónico, se pudo comprobar que las mitocondrias presentan una doble membrana que envuelve la matriz mitocondrial. La primera y más externa delimita la extensión de la mitocondria, además de mantener el contacto con el citoplasma. La segunda membrana, por supuesto más interna, se caracteriza por presentar invaginaciones denominadas crestas, las que penetran en la matriz mitocondrial. Como son dos membranas limitadas, encierran una porción mitocondrial denominada espacio intermembranas o espacio intercrestal.

Utilizando en microscópio electrónico efectuamos la determinación del área perímetro y densidad mitocondrial de todos los grupos en nuestro experimento.

Efecto del envejecimiento: El perímetro de las mitocondrias con el paso del tiempo no sufrió en términos generales ningún tipo de reducción ni aumento importante, salvo en el grupo girasol no complementado con CoQ que sufrió un descenso interesante. El área se redujo considerablemente en los grupos que recibían aceite de

girasol, con o sin suplementación con CoQ y minimamente en los grupos lo que explica su aumento de densidad. Sin embargo, la densidad de los grupos que recibieron aceite de oliva complementados o no con CoQ es superior, sobretodo en el complementado.

Efecto de la dieta: a los 6 meses observamos, con relación al perímetro, que el grupo que recibió aceite de girasol y CoQ presentó los valores más altos, no diferenciándose significativamente de ningún grupo, a excepción del grupo que recibió aceite de oliva e CoQ. Para el área observamos que el grupo que recibió aceite de oliva y CoQ presenta valores significativamente inferiores a todos los demás grupos. En el caso de la densidad, los grupos que recibieron aceite de oliva virgen, suplementados o no con CoQ, presentaron valores significativamente más altos que los grupos girasol. A los 24 meses el con relación al perímetro podemos decir que el grupo girasol acrecido de CoQ y oliva sin CoQ presentan valores superiores. Para el área solamente el grupo oliva virgen no suplementado presenta valores más altos. La densidad se muestra superior en los dos grupos oliva virgen y oliva virgen Q.

Se observa, en general, que los tejidos bioquímicamente más activos, presentan mitocondrias con un número mayor de invaginaciones. También se observa que la cantidad de mitocondrias en esos órganos, normalmente es mayor. Los órganos metabolitamente más activos deberían presentar una densidad más elevada que los otros menos activos. Eso se debe básicamente porque el número de invaginaciones en su membrana intercrestral es superior. A partir del momento que presentan un número más grande de crestas, se supone, fundamentalmente, que el aumento de superficie de contacto entre membrana y citoplasma es increíblemente mayor. *“Se ha calculado que el hígado y el corazón de rata contienen una superficie total de membrana interna mitocondrial de alrededor de 12 y 20 m², respectivamente”* (ALVAREZ y cols., 2000).

Con los datos obtenidos podemos afirmar que las diferencias encontradas sugieren que la actividad de las mitocondrias de los grupos que recibieron aceite de oliva se mantuvo más constante, sobretodo en el grupo oliva CoQ, que por sus características morfológicas parece ser la que sufre una reducción menor en su actividad a lo largo de la vida. El grupo girasol no complementado parece ser el más afectado por el paso del tiempo. Su homólogo suplementado con CoQ presenta resultados algo mejores. Con esos datos probablemente se refleja que la capacidad de producción energética y en la manutención de los mecanismos protección ante los radicales libres en el caso de nuestro estudio son mejores cuando se recibe aceite de oliva como fuente de grasa y aun mejores cuando se suplementa con CoQ.

Capítulo 6- CONCLUSIÓN

Conclusión primera

La utilización de fuentes de grasas específicas implica y refleja composiciones específicas de las membranas mitocondriales de corazón a nivel de ácidos grasos fosfolipídicos. Su proporción está directamente vinculada a la fuente de grasa consumida, o sea, a su composición. El mantenimiento de los beneficios y manifestación de posibles maleficios se mantienen de por vida, una vez que esta adaptación se mantiene constante mediante la utilización de cada fuente de grasa en si.

Conclusión segunda

Cuanto a la CoQ observamos que el caso que existe la capacidad corporal de redistribuir dicha substancias de acuerdo con las necesidades de los varios compartimentos corporales. Con el avance de la edad, los grupos que no recibieron complementación durante la juventud y adultez presentaron niveles más altos en la vejez en las mitocondrias de corazón, debido al desplazamiento desde el plasma al tejido cardíaco. Su fluidez por los compartimentos corporales esta vinculada a la capacidad del mismo en reutilizarla en los tejidos, lo que indica un alto control de sus niveles tisulares y una alta eficiencia de las vías metabólicas para maniobrar este compuesto. Observamos que las concentraciones plasmáticas fueron, por lo tanto, más acentuadas en los grupos que recibieron CoQ

Conclusión tercera

Observamos con el envejecimiento que el aumento de la formación de radicales libres era evidente, una vez que no hay una misma efectividad de los sistemas antioxidantes. Sin embargo, la suplementación con CoQ permitió a los grupos que lo recibieron una protección acentuada contra tales especies reactivas del oxígeno, protección esa superior a la que observamos a los grupos que no recibieron tal suplementación.

Conclusión cuarta

La mayoría de los indicadores y elementos del sistema antioxidante

estudiado (α -tocoferol, retinol, CoQ) sufrieron aumento tal como se esperaba, una vez que la necesidad de protección antioxidante con el paso del tiempo es más incisiva. Se observó otra vez para todos los parámetros que los grupos que no recibieron complementación durante la juventud y adultez presentaron niveles más altos en la vejez en las mitocondrias de corazón, debido al desplazamiento desde el plasma al tejido cardíaco. Los que la recibieron tuvieron niveles plasmáticos más acentuados.

Capítulo 7- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABERG, E.L.; Aberg F y col.: Distribution and redox states of ubiquinones in rat and human tissues. *Arch Biochem Biophys* 1992;295: 230-234.
- AEBI, H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984; 150, 121-127.
- AYRE, K.J. et al. "Dietary fatty acid profiles affect indurance in rats". *Lipids*, 1997; 32:1265-1270.
- AGUILERA, et al. "Efectos protectores do los ácidos grasos monoinsaturados sobre el desarrollo de la enfermedad cardiovascular". *Nutri Hosp.* 2001; 16(3):78-91.
- ALLEVA, R. Tomasetti M y col.: The roles of coenzyme Q10 and vitamin E on the peroxidation of human low density lipoprotein subfraction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9388-9391.
- ALVAREZ, Silvia, María José Novoa Bermúdez y Alberto Boveris "La mitocondria: estructura, función y especies reactivas del oxígeno", *Antioxidantes y Calidad de Vida*, jun 2000, 14pp.
- AMICI, A., Levine R.L., Tsai L., Stadtman E.R. "Conversion of amino acid residues in proteins and amino acid homopolymers to carbonyl derivatives by metal catalyzed oxidation reactions". *J Biol Chem*, 1989; 264: 3341-3346.
- ATAR D., Mortensen SA, Flachs H y col.: Coenzyme Q10 protects ischemic myocardium in an open chest swine model. *Clin Invest* 1993;71(8 Suppl): S103-S111.
- ARDUINO, Francisco, "Diabetes mellitus e suas complicações" - Rio de Janeiro: Ed. Livraria Atheneu S/A, 1962.
- ARUOMA, O., HALLIWELL, B., DIZDAROGLU, M. "Iron ion-dependent modification of bases in DNA by the superoxide radical-generating system hypoxanthine/xanthine oxidase". *J Biol Chem*, 1989; 264: 1324-1328.
- ASTRAND, P. O., Kaare Rodahl e, *Tratado de Fisiología do Exercício*. Rio de Janeiro: 2^a edição, Ed. Interamericana. 1980, pp. 8-44.
- BARZANTI, V. et al. "The efectc of dietary lipid changes of the fat acid composition and function of liver, heart and brain mitochondria in the rat of different ages" *Br. J. Nut.* 1994; 71(2):193-202.
- BATTINO, M, et all. "Oxidative stress induced by exercise and dietary fat modulates the coenzyme Q and vitamin A balance between plasma and mitochondria". *Int J Vitam Nutr Re*, 1999, 69(4):243-49.
- BELDA, Maria Cristina Rolfsen."Considerações sobre o efeito da ingestão de alimentos e do exercício físico em alguns parâmetros biológicos", *Revista de Ciências Farmacêuticas*, (8/9):149-66, Araraquara, Unesp, 1987.

- BERNSTEIN, C., BERNSTEIN, H. "Oxidative DNA damage as a potential major cause of aging. Aging, Sex and DNA Repair" *Academic Press, Inc.* San Diego, California, 1991, 91-107.
- BIANCALANA, Erica & SÁ, Telma Granado e. "Nutrição: a chave do esporte", *O mundo da saúde*, 36(9):262-8, São Paulo: USC, 1985.
- BIRNBAUM, Y., Hale SL, Kloner RA: The effect of coenzyme Q10 on infarct size in a rabbit model of ischemia/reperfusion. *Cardiovasc Res* 1996;32: 861-868.
- BOVERIS, A., "The mitochondrial generation of hydrogen peroxide: general properties and effect of hyperbaric oxygen". *Biochem J*, 1973; 134: 707-716.
- BOVERIS, A.; Cadenas E. "Mitochondrial production of superoxide anions and its relationship to the antimycin insensitive respiration". *FEBS Lett*, 1975; 54: 311-314.
- BRANDT, U. *Exploring the ubiquinone binding sites of proton translocating enzymes of the respiratory chain*. Institut for Biochemie I, Frankfurt. Abstracts of the Second Conference of the International Coenzyme Q10 association. Frankfurt, Germany Dec 1-3, 2000.
- BRADY, P.S., Brady L.J., Ulrey D.E. "Selenium, vitamin E, and the response to swimming stress in the rat". *J Nutr*, 1979; 109: 113-1109.
- BUSTAMANTE, Juanita "Apoptosis" *Antioxidantes y Calidad de Vida*, jul 2000, 10pp.
- CABRERA, M.C. Gómez et ali. "Deporte de alta competición y daño oxidativo: papel de los nutrientes antioxidantes" *Antioxidantes y Calidad de Vida*, nov 2000, 9pp.
- CADENAS, E, Boveris A, Ragan CI, Stoppani OM. "Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c reductase from beef heart mitochondria". *Arch Biochem Biophys*, 1977; 180: 248-257.
- CARDOSO, *Antioxidantes y calidad de vida*. Octubre, 2002
- CARVALHO, Valdemir Melechco. Adutos de DNA gerados por produtos da lipoperoxidação: caracterização, detecção, incorporação em oligonucleotídeos e implicações biológicas, São Paulo; s.n; 2001. [187] p. ilus, tab, graf.
- CHANCE, B., SIES, H., BOVERIS, A. "Hydroperoxide metabolism in mammalian organs". *Physiol Rev*, 1979; 59: 527- 605.
- CHARLESWORTH, B. "Evolution in age-structured populations". *Cambridge: Cambridge University Press*, 1994.
- CHEN, J.J., et al. "Alteration in mitochondrial membrane fluidity by lipid peroxidation products". *Free Rad. Biol. Med.* 1994; 15(5):408-412.
- CHEN X; Touyz RM; Park JB; Schiffrin EL. "Antioxidant effects of vitamins C and E are

- associated with altered activation of vascular NADPH oxidase and superoxide dismutase in stroke-prone SHR” *Hypertension*; UNITED STATES, 38(3 Pt 2):606-11, 2001 Sep.
- CLANDININ, M.T., et al. “Role of diet fat in subcellular structure and function”. *Can. J Fisiol. Pharmacol.* 1985; 163:547-552.
- DALLNER, G. “Regulatory aspects of coenzyme Q metabolism”. Stockholm University. *Abstracts of the Second Conference of the International Coenzyme Q10 association.* Frankfurt, Germany Dec 1-3, 2000.
- DAVIES, K.; Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. “Free radicals and tissue damage produced by exercise”. *Biochem Biophys Res Comm*, 1982; 107: 1198-1205.
- DILLARD, C.J., Litov R.E., Savin W.M., Dumelin E.E., Tappel A.L. “Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation”. *J Appl Physiol* 1978; 45: 927-932.
- DONANGELO, Carmem Marino. “Nutrição dieta e atividade física”, *Ars Cvrandi*, 5:110-22, v.15, jun, 1982.
- DE TERESA, C., Molina, E. “El ejercicio físico en el manejo de las cardiopatías”. *Anales de Cirugía Cardíaca y Cirugía Vascul*, 2001. In press.
- DRENTH; J.P. et al. “Endurance run increase circulating IL-6 and IL1ra but downregulates ex vivo TNF-alpha and IL-1 beta production”. *J. Appl. Physiol.* 1995, 79:1497-503.
- DYKENS, J.A. “Isolated cerebral and cerebellar mitochondria produce free radicals when exposed to elevated Ca²⁺ y Na⁺: implications for neurodegeneration”. *J Neurochem* 1994; 63: 584-591.
- ERNSTER, L., Dallner G: Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim Biophys Acta* 1995;1271: 195-204.
- ESCUADERO, A., et al. “Effect of dietary n-6, n-3, n-9 fatty acids on membrane lipid composition and morphology of rat erythrocytes”. *Biochim. Biophys. Acta.* 1998; 1394:65-73.
- ESPOSTI, M. Degli. et al. “Incorporation of ubiquinone homologs into lipid vesicles and mitochondrial membranes”. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* Aug., 1981, vol. 210, n°1, pp.21-32.
- EVELO, C.; Palmén NGM, Artur Y, Jansen GME. “Changes in blood glutathione concentrations, and in erythrocyte glutathione reductase and glutathione S-transferase activity after running training and after participation in contests”. *Eur J Appl Physiol*, 1992; 64: 354-358.

- FATO, Romana et al. "A simple method for the determination of the kinetic constants membrane enzymes utilizing hydrophobic substrates: ubiquinol cytochrome c reductase". *Biochimica et Biophysica Acta*. 1988, pp. 216-22.
- FERNANDES, Aline Silva; Frank, Andréa Abdalla; Soares, Eliane de Abreu. "A importância do zinco no processo de envelhecimento", *Mundo Saúde* (1995);25(2):143-8, abr.-jun. 2001.
- FERREIRA, Ricardo "Enzimas antioxidantes y prooxidantes: características principales y su ubicación en el genoma humano" *Antioxidantes y Calidad de Vida*, sep 2000, 3pp.
- FINKEL, T. et al. "Oxidants, oxidative stress and biology of ageing". *Nature*, 2000; 408:239-247.
- FLOHÉ, L., Wolfgang, A. G. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 1984; 105, 114-121
- FOLKERS, Karl; Langsjoen, Peter & Langsjoen Per H. "Therapy with coenzyme Q₁₀ of patients in heart failure who are eligible or ineligible for a transplant". *Biochemical and Biophysical Research Communication*. Jan., 1992, vol. 182, nº1, pp.247-53.
- FOLKERS, K., Vadhanavikit S, Mortensen SA: Biochemical rationale and myocardial tissue data on the effective therapy of cardiomyopathy with coenzyme Q10. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82: 901-904.
- FOSTER, C., et al. "Physiological and pathological aspects of exercises left ventricular dysfunction". *Med. Sci. Sports. Exerc*, 30 (10,suppl.):S379-86.
- FRAGA, C., MOTCHNIK, P.A., SHIGENAGA, M.K., HELBOCK, H.J., JACOB, R.A., AMES, B.N. "Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm". *Proc Natl Acad Sci, USA* 1991; 88: 11003-11006.
- FREI, B.M., Kim M.C., Ames B.N. "Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations". *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 1990; 87: 4879-4883.
- FREITAS, R. G. de & COSTA, Carlos Alberto Coelho, *Química Orgânica*. Rio de Janeiro: Ed. Ao Livro Técnico S.^a, 1970, pp. 427-33.
- FRESNO, M. "Modulating effects of Phlebodium decumanum on the release of pro-inflammatory cytokines in different cell lines". In press.
- FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. *Ann. Rev. Biochem.* 1975; 44, 147-159.
- GALLEANO, Mónica y Susana Puntarulo "Sobrecarga de hierro y radicales libres" *Antioxidantes y Calidad de Vida*, feb 2000, 9pp.
- GEE, D.L., Tappel A.L. "The effect of exhaustive exercise on expired pentane as a measure of in vivo lipid peroxidation in the rat". *Life Sci* 1981; 28: 2425-2459.

- GARG, A., "High monounsaturated fat diet for patients with diabetes mellitus. A meta analysis". *Am. J. Clin. Nutr.* 1998; 67(5):775-825.
- GIBSON, R.A. et al. "Homeostatic control of membrane fatty acid composition in the rat after dietary lipid treatment". *Lipids*, 1984, 19(12):942-951.
- GIBSON, Q. H., "The reduction of methemoglobin in red blood cells and studies on the cause of idiopathic methemoglobinemia". *Biochem J*, 1948; 42: 13-23.
- GIRON, M.D. et al. "Long term effects of dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acid of lipid composition of erythrocyte membrane in dog". *Comp. Bioch. Fisiol.* 1992; 102(S):197-201.
- GOHIL, K., Fothfuss L., Lang J., Packer L. "Effect of exercise training on tissue vitamin E and ubiquinone content". *J Appl Physiol* 1987; 63: 1638-1641.
- GOHIL, K., Packer L., DeLumen B., Brooks G.A. "Terblanche SE: Vitamin E deficiency and vitamin C supplements: exercise and mitochondrial oxidation". *J Appl Physiol* 1986; 60: 1986-1991.
- GOHIL, K., Viguie C., Stanley W.C., Brooks G.A., Packer L. "Blood glutathione oxidation during physical exercise". *J Appl Physiol* 1988; 64: 115-119.
- GONZÁLEZ, J. A., et al. "Vitamin E supplementation increases the stability and antioxidant capacity of refined olive oil". *Free Rad Res*, 1999, 31:129-35.
- GOTZ, M.E., Gerstner A., Harth R. "Altered redox state of platelet coenzyme Q10 in Parkinson's disease". *J Neural Transm* 2000;107:41-8.
- GUPTE S. A.; Okada T, Prostaglandins and nitric oxide mediate superoxide-induced myocardial contractile dysfunction in isolated rat hearts.; UK, 33(6):1107-17, 2001 Jun.
- GUYTON, Arthur C., *Fisiología humana e mecanismo das doenças* - Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 5ª Edição, pp 50-64; pp. 434-49; pp. 542-51.
- GRUBE, K., Burkle, A. "Poly (ADP ribose) polymerase activity in mononuclear leukocytes of 13 mammalian species correlate with species-specific life span". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992; 89(24):11759-11763.
- HANO, O., Thompson Gorman SL, Zweier JL y col.: Coenzyme Q10 enhances cardiac functional and metabolic recovery and reduces Ca²⁺ overload during postischemic reperfusion. *Am J Physiol* 1994;266 (6Pt2): H2174-H2181.
- HARTMANN, A., Niess A.M., Grunert-Fuchs M., Poch B., Speit G. "Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage". *Mutation Res* 1995; 346: 195-202.
- HELGHEIN, I., Hetland O., Nilsson S., Ingjer F., Stromme S.B. "The effects of vitamin E on serum enzyme levels following heavy exercise". *Eur J Appl Physiol*, 1979; 40: 283-

289.

HOFMAN- BANG, C., Rehnqvist N y col.: Coenzyme Q10 as an adjunctive in treatment of congestive heart failure. *JACC* 1992;19: 216A.

HUERTAS; J.R. et al. "Changes in mitochondrial and microsomal rat liver coenzyme Q₉ and Q₁₀ content induced by dietary fat and endogenous lipid peroxidation". *Federation of European Biochemical Societies (FEBS)*, ago, 1991, volume 287, nº1/2, pp.89-92.

HUERTAS; J.R. et al. "Citocrome oxidasa induction after oxidative stress induced by adriamicin in liver of rats with dietary olive oil". *Bioch. Biofys.Res. Common*, 1991, 181(1):375-382.

HUERTAS, J.R., et al. "Virgin olive and coenzyme Q₁₀ protect heart mitochondria from peroxidative damage during aging. *Biofactors*, 1999, (9):337-43.

HUERTAS, J.R., et al. "Virgin olive oil protect heart mitochondria from peroxidative damages during aging". *Biofactors*, 1999; 9:337-343.

IMAM, S.Z.; Ali, S.F. "Aging increases the susceptibility to methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity in rats: correlation with peroxynitrite production and hyperthermia" *Journal of Neurochemistry*; US, 78(5):952-9, 2001 Sep.

IMRE, S., et al. "Autoxidacion test for measuring the lipid peroxidation capacity of liver tissue". *Akademiáni Kiadó*, Budapest, 1990; 101-108.

INDIK JH; Goldman S; Gaballa MA "Oxidative stress contributes to vascular endothelial dysfunction in heart failure", *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; UNITED STATES, 281(4):H1767-70, 2001 Oct .

IMLAY, J.A, LINN, S. "DNA damage and oxygen radical toxicity". *Science*, 1988; 240: 1302-1309.

INOUE, T., Mu Z., Sumikawa K., Adachi K., Okochi T. "Effect of physical exercise on the content of 8- hydroxyde- oxygua- nosine in nuclear DNA prepared from human lymphocytes". *Jap J Cancer Res* 1993; 84: 720-725.

ISABELLE, V., Prévost, C., Spothem-Maurizot, M., Sabattier, R., Charlier, M. "Radiation-induced damages in single and double stranded DNA". *Int J Radiat Biol*, 1995; 67: 169-176.

Jl, LL. "Antioxidants and oxidative stress in exercise". *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*, 1999, 222:283-82.

Jl, L.L., Katz A., Fu R., Griffiths M., Spencer M. "Blood glutathion status during exercise: effect of carbohydrate supplementation". *J Appl Physiol*, 1993; 74: 788-792.

Jl L.L, Stratman FW, Lardy HA. "Enzymatic down regulation with exercise in rat skeletal

- muscle". *Arch Bioch Byophys* 1988; 263: 137-149.
- Jl, L.L. "Oxidative stress during exercise: Implications of antioxidant nutrients". *Free Rad Biol Med* 1995; 18: 1079-1086.
- JUDY, W.V., Folkers K, Hall JH: Improved long term survival in coenzyme Q10 treated chronic heart failure patients compared to conventionally treated patients. In *Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q10*, eds Folkers K, Littarru GP, and Yamagami T. 1991;6: 291-298. Elsevier, Amsterdam.
- KAGAN, V.E; Shvedova A, Serbinova E, Khan S, Swanson C, Powell R, Packer L. "Dihydrolipoic acid: A universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase". *Biochem Pharmacol*, 1992; 44: 1637-1649.
- KAMIKAWA, T., Kobayashi A, Yamashita T y col.: Effects of coenzyme Q10 on exercise tolerance in chronic stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1985;56: 247-251.
- KANTER M.; Lesmes GR, Kaminsky LA, La Ham-Saeger J, Nequin N. "Serum creatine kinase and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometer race. Relationship to lipid peroxidation". *Eur J Appl Physiol Occupational Physiol*, 1988; 57: 60-63.
- KANTER, M.M., Nolte N.A., Holloszy J.O. "Effect of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and post exercise". *J Appl Physiol* 1993; 74: 965-969.
- KEENAN, C. et all. "The libitum feeding, group housing, and controlled feeding and body weight gain, longevity and pathology parameters of Sprague-Dawlet rats", *Toxico Scl*, 1998; 42:73.
- KELLER, J. N., Hanni, K. B., Markesbery, W. R., Possible involvement of proteasome inhibition in aging: implications for oxidative stress *Mechanisms of Ageing and Development*, 113 61–70, 2000.
- KELLOG, E.W.; Firdovich I. "Superoxide, hydrogen peroxide, and singlet oxygen in lipid peroxidation by a xanthine oxidase system". *J Biol Chem*, 1975; 250: 8812-8817.
- KHAWLI, F., Reid M.B. "N-acetylcysteine depresses contractile function and inhibits fatigue of diaphragm in vitro". *J Appl Physiol* 1994; 77: 317-324.
- KIKWOOD, T.D.L. "Evolution og ageing". *Nature*, 1977; 270: 301-304.
- KIKWOOD, T.D.L. "Human cenescence". *Bio Essays*, 1996; 18:1009-1016.
- KIKWOOD, T.D.L. et al. "Why do we age?". *Nature*,1996; 408:233-237.
- KOWALD, A. " The lifespan do not measure ageing" *Biogerontology*, 2002, 3(3):187-197.
- KROGER, A. *Determination of contents and redox state of ubiquinone and menaquinone*. *Methods Enzymol*. 1978; 53, 579-591

- LAGUNA, José. *Bioquímica*. São Paulo: Ed. Mestre Jou, 1978, pp.263-301.
- LANGSJOEN, P.H., Vadhanavikit S, Folkers K: Response of patients in classes III and IV of cardiomyopathy to therapy in a blind and crossover trial with coenzyme Q10. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82: 4240-4244.
- LAWRENCE, J.D., Bower R.C., Riehl W.P., Smith J.L. "Effects of alpha tocopherol acetate on the swimming endurance of trained swimmers". *Am J Clin Nutr*, 1975; 28: 205-208.
- LEAF, D.A. et al. "The exercise-induced oxidative stress parados the effects of physical exercise training". *Am. J. Med. Sci*, 1999, 317:295-300.
- LEEUWENBURGH, C.; Fiebig R, Chandwaney R, Ji LL. "Aging and excercise training in skeletal muscle: responses of gutathione and antioxidant enzyme systems". *Am J Physiol* 1994; 267: R439-R445.
- LEHNINGER, Albert L. et al. *Princípios de bioquímica*. 2 ed. São Paulo: Sarvier Editora de Livros Médicos, 1995, pp.297-373.
- LEIBOVITZ, B., Hu M.L., Tappel A.L. "Dietary supplements of vitamin E, beta-carotene, coenzyme Q10 and selenium protect tissues against lipid peroxidation in rat tissue slices". *J Nutr*, 1990; 120: 97-104.
- LENAZ, G. et al. "Mitochondria, oxidative stress, and oxidant defences". *Acta Bioquimica Polonica*. Italia, vol. 46, nº 1, 1999, pp.1-21.
- LENAZ, G. "Role of mitochondria in oxidative stress snd ageing". *Biochimica at Biophysica Acta*. 1998, pp. 53-67.
- LENAZ, G. *An overview of the role of coenzyme Q in mitochondrial oxidative phosphorylation*. University of Bologna, Italy. Abstracts of the Second Conference of the International Coenzyme Q10 association. Frankfurt, Germany Dec 1-3, 2000.
- LENAZ, G. et al. "Studies on the role of ubiquinone in the control of the mitochondrial respiratory chain". *Free Rad. Res. Comms*.UK, 1989, vol. 8, nº4-6, pp.317-27.
- LENAZ, G. et al. "The essentially of coenzyme Q for bioenergetics and clinical medicine". *Drugs Exptl. Clin. Res. XI*, 1985, pp.547-56.
- LESKO, S.A, LORENTZEN, R.J, et ali. "Role of superoxide in deoxyribonucleic acid strand scission". *Biochemistry*, 1980; 19: 3023-3028.
- LEVINE, R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent I., Lenz A.G., Ahm B.W., Shaltiel S., Stadtman E.R. "Determination of carbonyl content in oxidatively modified protein". *Meth Enzymol* 1990; 186: 464-478.
- LITTARRU, G. P. et al. "Coenzyme Q₁₀: blood levels and metabolic demand" *Int. J. Tiss.*

Reac. XII(3) pp.145-8 (1990).

- LLESUY, Susana “El proceso de lipoperoxidación” *Antioxidantes y Calidad de Vida* , ago 1999, 3pp.
- LOVLIN, R.; Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro A.N. “Are indices of free radical damage related to exercise intensity”. *Eur J Appl Physiol, Occupational Physiol* 1987; 56: 313-316.
- MARASCO, Silvana, Salvatore Pepe y Franklin L. Rosenfeldt “Empleo clínico de la coenzima Q10” *Antioxidantes y Calidad de Vida* , oct 1999, 7pp.
- MARTIN, F. “Efecto de la adaptación al tipo de grasa dietética y del ejercicio físico sobre la composición lipídica de membranas microsomaes y mitocondriales de distintos órganos”. *Tesis Doctoral*, 2002.
- MARTIN, G.M. et al. “Genetic analysis of aging: role of oxidative damage and environmental stresses”. *Nature Genet.*; 1996, 13:25-34.
- MASI, I. et al. “Diet rich in saturated monounsaturated and polyunsaturated fatty acids differently affect plasma lipids, platelet and arterial wall eicosanoids in rabbits”. *An. Nut. Metab.* 1986; 30:66-72.
- MATAIX, J. et al. “Cytochrome oxidase induction after oxidative stress induced by adriamycin in liver of rats fed with dietary olive oil”. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. Nov, 1991, vol. 181, nº1, pp.375-82.
- MATAIX, J, Quiles J.L., Huertas J.R., Battino M.; Mañas M. “Tissue specific interactions of exercise, dietary fatty acids, and vitamin E in lipid peroxidation”. *Free Radical Biology & Medicine*. 1998; 24:511-521.
- MATAIX, J. “ Aceite de oliva virgen: nuestro patrimonio alimentario”. Universidad de Granada Puleva Food. 2001; 21:155-188.
- MATASUSHIMA. T., Sueda T y col.: Protection by coenzyme Q10 of canine myocardial reperfusion injury after preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;103: 945-951.
- MATSUMOTO, H., Miyawaki F y col.: Effect of Coenzyme Q10 pretreatment on myocardial preservation. *Heart Transplantation*. 1984;3: 160-165.
- MAUGHAN, R.J., Donnelly A.E., Gleeson M., Whiting P.H., Walker K.A., Cough P.J., “Delayed onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run”. *Muscle and Nerve* 1989; 12: 332-336.
- MEHLHORN, R.J., Sumida S., Packer L. “Tocopheroxyl radical persistence and tocopherol consumption in liposomes and in vitamin E-enriched rat liver mitochondria and microsomes”. *J Biol Chem*, 1989; 264: 13448-13452.

- MEYDANI, M., Evans W.J., Handelman G., Biddle L., Fielding R.A., Meydani S.N., Burrill J., Fiatarone M.A., Blumberg J.B., Cannon J.G. "Protective effect of vitamin E on exercise-induced oxidative damage in young and older adults". *Am J Physiol* 1993; 264: R992-R998.
- MOHR, D., Bowry VW y col.: Dietary supplementation with coenzyme Q10 results in increased levels of ubiquinol-10 within circulating lipoproteins and increased resistance of human low-density lipoprotein to the initiation of lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta* 1992;1126: 247-254.
- MOLINA, Héctor A. "El ácido úrico como antioxidante de los radicales libres del oxígeno en fluidos humanos" *Acta bioquímica clínica latinoamericana*; 35(1):69-73, mar.2001. illus.
- MORTENSEN, S.A., Vadhanavikit S, Muratsu K y col.: Coenzyme Q10: clinical benefits with biochemical correlates suggesting a scientific breakthrough in the management of chronic heart failure. *Int J Tissue Reac* 1990;12: 155-162.
- MULLANY., C.J., Darling GE, Pluth JR y col.: Early and late results after isolated coronary artery bypass surgery in 159 patients aged 80 years and older. *Circulation* 1990;82 (5 Suppl): IV229-IV236.
- MÜLLER-HÖCKER, J. *J Neurol Sci*, 1990; 100: 14- 21.
- MURPHY, M.E., Keherer J.P. "Oxidation state of tissue thiol groups and content of protein carbonyl groups in chickens with inherited muscular dystrophy". *Biochem J* 1989; 260: 359-364.
- NAKAMURA, T., Sanma H y col.: Transfer of exogenous coenzyme Q10 to the inner membrane of heart mitochondria in rats. In: Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q, Vol 2. 1980 *Elsevier/North Holland Biomedical Press*.
- NAVARRO, M.D. et al. "Effect of dietary olive and sun flower lipids of lipid composition of the aorta and platelets and on blood eicosanoids in rats". *Arteriosclerosis and thrombosis*.1992; 12:830-835.
- NAVARRO, M.D. et al. "The n-3 polyunsaturated fatty acid levels in rat tissue lipids increase in response of dietary olive oil relative to sunflower oil". *Lipids*, 1994; 29:845-849.
- NAYLER, W.G.: The use of coenzyme Q10 to protect ischemic heart muscle. In: Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q10. Yamamura Y, Folkers K, Ito (Eds.) *Elsevier/North Holland Press*;NY. 1980;2: 409-424.
- NEHLSSEN-CANNARELLA, S. L. Et al. "Carbohydrate and cytokine response to 2,5h of

- running". *J. Appl. Physio.*; 1997, 82:1662-7
- OCHOA, J.J. et al. "Dietary oils high in oleic acid, but with different non-glycerid contents, have different effects on lipid profiles and peroxidation in rabbit hepatic mitochondria". *J. Nutr. Biochi.* 12:357-364, 2001.
- OCHOA, J.J. et al. "Relative importance of the saponified and unsaponified fractions of dietary olive oil on mitochondrial lipid peroxidation in rabbit heart". *Nutr. Metab. Card.* 1999, 9:284-288.
- OCHOA, J.J. et al. "Aging related oxidative stress depends on dietary lipis source in rats posmitotic tissues". *J. Bioenerg. Biomembr.* 2003, 35:267-275.
- OH-ISHI, S. et al. "Endurance training improves the resistance of rats diaphragm to exercise-induced oxidative stress. *Am. J. Respi. Crit. Care. Med.*, 156:1589-85, 1997.
- OHNO, H.; Yahata T, Sato Y, Yamumura K, Taniguchi N. "Physical training and fasting erythrocyte activities of free radical scavenging systems in sedentary men". *Eur J Appl Physiol*, 1988; 57: 173-176.
- OLIVER, C.N., Ahn B.W., Moerman E.J., Goldstein S., Stadtman E.R. "Age-related changes in oxidized proteins". *J Biol Chem* 1987; 262: 5488-5491.
- OSTROWISKI, K et al. "Pro and Anti-inflammatory cytokines balance strenous exercise in humans. *J. Physiol*, 1999, 515:287-91.
- OSTROWISKI, K et al. "Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running". *J. Physiol*, 1998, 508:949:53.
- PACKER, Lester, "Antioxidantes y atletismo", *Antioxidantes y Calidad de Vida* , ago 1999, 24pp.
- PACKER, L., Gohil K., DeLumen B., Terblanche S.E. "A comparative study on the effects of ascorbic acid deficiency and supplementation on endurance and mitochondrial oxidative capacities in various tissues of the guinea pig". *Comp Biochem Physiol*, 1986; 83B: 235-240.
- PACKER, L. "Interactions among antioxidants in health and disease: vitamin E and its redox cycle". *Proc Soc Expt Biol Med*, 1991; 200: 271-276.
- PARADIES, et al. "Age-related changes in the activity of the piruvate carrier in the lipid compoision in rat heart mitochondria". *Biochem. Biophys. Acta*, 1990; 1016:207-212.
- PENDERSEN, B. K. et al. "Exercise-induce inmunomodulation possible of role neuroendocrine and metabolic factors". *Inst. J Sport. Med*; 1997, 18:2-7.
- PERALTA, Jorge "Sepsis y radicales libres" *Antioxidantes y Calidad de Vida*, ago 1999, 4pp.

- PERIAGO; J.L. et al. "Effect of dietary olive oil, corn oil and medium-chain triglycerides on the lipid composition of red blood cell membranes". *J. Nutri.* 1990; 120:982-994.
- PINI, Mário Carvalho, *Fisiologia Desportiva*. Rio de Janeiro: 2^a edição, Ed. Guanabara Koogan, 1983, pp.117-40.
- POLI, Giuseppe "Daño por reperfusión y empleo de antioxidantes en el transplante de hígado" *Antioxidantes y Calidad de Vida*, jul 2000, 7pp.
- PUGH, T.D et al. "Dietary intervention at middle age: caloric restriction but not dehydroepiandrosterone sulphate increase lifespan and lifetime cancer incidence in mice" *Cancer Res.*, 1999; 59(7): 1642-58.
- QUINTANILHA, A.T. "Effects of physical exercise and/or vitamin E on tissue oxidative metabolism". *Bioch Soc Transact*, 1984; 12: 403-404.
- QUILES, J.L. Tesis doctoral: "*Estudio comparativo de aceite de oliva y girasol sobre la peroxidación lipídica en ratas sometidas a ejercicio físico*". Universidad de Granada. 1995, pp.23-106.
- QUILES, J.L. et ali. "Olive oil supplemented with vitamin E affects mitochondrial coenzyme Q levels in liver of rats after an oxidative stress induced by adriamycin". *Biofactors*, 1999, (9):331-36.
- QUILES, J.L. et ali. "Dietary fat type and exercise affect mitochondrial composition and function depending on specific tissue in rat". *J. Bioenr. Biomem*, 2001, 33:127-134.
- QUILES, J.L. et ali. "Oxidative stresses induced by exercise and dietary fat modulates the coenzyme Q and vitamin A balance between plasma and mitochondria". *Int. J. Nutri. Res.* 1999, 69(4):243-249.
- RAO, G.N et al. "Growth, body weight, survival, and tumor trends in F344/N rats during an eleven-year period" *Toxicol Patol*, 1990, 18:71-90.
- REID, M.B., Stokic D.S., Koch S.M., Khawli F.A., Leis A.A. "N-acetylcysteine inhibits muscle fatigue in humans". *J Clin Invest*, 1994; 94: 2468-2474.
- REZNICK, A., Witt E.H., Matsumoto M., Packer L. "Vitamin E inhibits protein oxidation in skeletal muscle of resting and exercised rats". *Biochem Biophys Res Comm*, 1992; 189: 801-806.
- RODRIGUES, Yvon T. & GIOIA, Osmam. "Alimentação do Adolescente Atleta ou Esportiva, *Jornal de Pediatria*, (1/2):39-44, v.56, Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Pediatria, jan/fev, 1984.
- ROSE, M.R. "Evolutionary biology of ageing". *Oxford University Press.*; New York, 1991.
- SALMINEN, A., Vihko V. "Endurance training reduces the susceptibility of mouse skeletal

- muscle to lipid peroxidation in vitro". *Acta Physiol Scand* 1983; 117: 109-113.
- SALMINEN, A., Vihko V. Lipid peroxidation in exercise myopathy. *Experimental and Molecular Pathology* 1983; 38: 380-383.
- SALTIN, B, y Stemberg, J. "Circulatory responses to prolonged severe exercise". *J.Appl.Physiol.* 19:833-838, 1964.
- SASTRE, J., Asensi M., Gasco E., Pallardo F.V., Ferrero J.A., Furukawa T., Viña J. "Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathion status in blood: prevention by antioxidant administration". *Am J Physiol* 1992; 263: R992-995.
- SCHAPIRA, A., et al. *Mitochondrial dysfunction in neurodegeneration: prospects for treatment*. Clinical Neurosciences University College, London. Abstracts of the Second Conference of the International Coenzyme Q10 association. Frankfurt, Germany Dec 1-3, 2000.
- SCHESTED, P., Heidt P y col.: Normal levels of coenzyme Q10 in patients awaiting cardiac transplantation. *Transpl Proceed* 1993;25: 2365-2367.
- SEIQUER, I. et al. "Long-term influence of dietary fat (sunflower oil, olive, lard and fish oil) in the serum fatty acids composition and in the differences lipids fractions, in miniature swine". *Internat. J. Vit. Res.* 1996; 66:171-179.
- SEN, C. K.; Rankinen T, Vaisanen S, Rauramaa R. "Oxidative stress after human exercise: effect after N-acetylcysteine supplementation". *J Appl Physiol*, 1994; 76: 2570-2577.
- SERRANO, P. et al. "Influence of type of dietary fat (olive and sunflower oil) upon gastric acids and secretion and release of gastrin, somatostatin and peptide YY in man". *Digestive disease and Sciences*, 1997; 42:626-633.
- SEVANIAN, A. y Hochstein, P. Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological systems. *Ann. Rev. Nutr.* 1985; 5: 365-390.
- SHEPHARD, R.J., Campbell R., Pimm P., Stuart D., Wright G.R. "Vitamin E, exercise and the recovery from physical activity". *Eur J Appl Physiol* 1974; 33: 119-126.
- SHINOMURA, Y., Suzuki M., Sugiyama S., Hanaki Y., Ozawa T. "Protective effect of coenzyme Q10 on exercise-induced muscular injury". *Biochem Biophys Res Comm*, 1991; 176: 349-355.
- SHIGENAGA, M.K., Gimeno C.J., Ames B.N. "Urinary 8-hydroxy-deoxiguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage". *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1989; 86: 9697-9701.
- SHULTS, C.W., Haas R.H., Beal M.F. "A possible role of coenzyme Q10 in the etiology and treatment of Parkinson's disease". *Biofactors* 1999;9:267-72.

- SIES; H. "Strategies of antioxidant defense". *Eur J Biochem* 1993; 215: 213-219.
- SIMON-SCHNASS, I., Pabst H. "Influence of vitamin E on physical performance". *Internat J Vit Nutr Res*, 1988; 58: 49-54.
- SINGH, V.N.; "A current perspective of nutrition and exercise". *J Nutr*, 1992; 122 (3 Suppl): 760-765.
- SIRTORI, C.R. et al. "One year treatment with ethyl esters of n-3 fatty acids in patients with hipertriglyceridemia and glucose intolerance: reduced trygliceridemia, total cholesterol and increased LDL-c without glicemic alterations". *Atherosclerosis*, 1998; 137(2):419-427.
- SJODIN, B; Westing H; Apple FS. "Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise". *Sports Med*, 1990; 10: 236-254.
- SJODIN, B.; Hellsten Westing Y, Apple FS. "Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise". *Sports Med*, 1990; 10: 236-254.
- SMITH, L.L. et al. "Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise". *Eur.J.Appl.Physiol.*2000, 82:61-7.
- SOARES Netto, Luis Eduardo "Regulación de la defensas antioxidantes" *Antioxidantes y calidad de vida*; 7(32):5-13, mar. 2001. ilus
- SOCIEDAD VENEZOLANA DE GASTROENTEROLOGIA. "Ejercicio y Nutrición", *Gen*, 4:409-14, v.44, oct/dic, Caracas, 1990.
- SORINGUER, F.J. et al. "Varing incorporation in fatty acids into phospholipids from muscle, adipose and pancreatic exocrine tissues and thymocytes in adult rats feed with diet rich with different fatty acids". *Euro J. Epidemiol.* 2000; 16:585-594.
- SPECTOR, A. et al. "Membrane lipid composicion and cellular function". *J. Lipid. Res.* 1985; 26:2005-2008.
- STADTMAN, E.R., Oliver C.N. "Metal-catalyzed oxidation of proteins. Physiological consequences". *J Biol Chem*, 1991; 266: 2005-2008.
- STRYER, Lubert. *Bioquímica*. España, 1988, Editorial Reverte S.A., tercera edición, cap. 13-8, pp.321-500.
- STRYER, Lubert. *Bioquímica*. España, 1995, Editorial Reverte S.A, 1995; 403-431.
- SUMIDA, S., Tanaka K., Kitao H., Nakadomo F. "Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation". *Int J Biochem*, 1989; 21: 835-838.
- SUNAMORI, M., Tanak H, Maruyama T y col.: Clinical experience of coenzyme Q10 to enhance intraoperative myocardial protection in coronary artery revascularization.

- Cardiovasc Drugs Ther 1991;5: S297-300.
- TANAKA, J., Tominaga R y col.: Coenzyme Q10. The prophylactic effect on low cardiac output following cardiac valve replacement. *Ann Thorac Surg* 1982;33: 145-151.
- TERAO, J. et al. *M. J. Agri. Food Chem*, 1991; 39:1477-1481.
- TROUNCE, I., BYRNE, E., MARZUKI, S. "Decline in skeletal muscle mitochondrial respiratory chain function: possible factor in aging". *Lancet*, 1989; 1: 637-639.
- TOMONO Y, Hasegawa J, Seki T y col.: Pharmacokinetic study of deuterium-labeled coenzyme Q10 in humans. *Int J Pharmacol Therap Toxicol* 1986;24: 536-541.
- TURNES, Julio F. "Fuentes intracelulares de especies oxidantes en condiciones normales y patológicas", *Antioxidantes y Calidad de Vida*, ago 1999, 9pp.
- VALDEZ, L.; ALVAREZ, S.;BOVERIS, A. "ADN: estructura y daño oxidativo." *Antioxidantes y Calidad de Vida*, septiembre 1999, 10pp.
- VENKATRAMAN; J. T. et al. "Effects of level of dietary fat intake and endurance exercise on plasma cytokines in runners". *Med. Sci. Sport. Exerc.* 1998, 30:1198-204.
- VERBEKE, P. Clark, B. F. C., Rattan, S. I. S., Modulating cellular aging in vitro: Hormetic effects of repeated mild heat stress on protein oxidation and glycation, *Exp. Gerontol.*, 35, 787-794, 2000.
- VIINIKKA, L., Vuori J., Ylikorkala O. "Lipid peroxides, prostacyclin, and thromboxane A2 in runners during acute exercise". *Med Sci Sports Exercise*, 1984; 16: 275-277.
- VOLLMAR, B. et al. "In vivo quantification of age-related changes in the rat liver from early juvenile to senescent life". *Liver*, 2002, 22:330-341.
- WALKER LM; York JL; Imam SZ; Ali SF; Muldrew KL; Mayeux PR "Oxidative stress and reactive nitrogen species generation during renal ischemia", *Toxicology Science*; US, 63(1):143-8, sep., 2001.
- WALLACE, D.C. "Diseases of the mitochondrial DNA". *Annu Rev Biochem*, 1992; 61: 1175-1212.
- WASSERMAN, K., HANSEN, et al. "Principles of exercises testing and interpretation". *Lea and Febiger*. Philadelphia, 1987.
- WEBER C, Jakobsen TS y col.: Effect of dietary coenzyme Q10 as an antioxidant in human plasma. *Mol Aspect Med* 1994;15(suppl): S97-S102.
- WHITMAN, G.J., Niibori K, Yokoyama H y col.: The mechanism of coenzyme Q10 as a therapy for myocardial ischemia reperfusion injury. *Mol Asp Med* 1997;18 Suppl: S195-S203.
- WILSON, R.B., Roof D.M. "Respiratory deficiency due to loss of mitochondrial DNA in

- yeast lacking the frataxin homologue". *Nature Genet* 1997;16:352-57.
- WOLBARSH, M.L.; Fridovich I. "Hyperoxia during reperfusion is a factor in reperfusion injury". *Free Rad Biol Med* 1989; 6: 61-62.
- WOLINSKY, Ira, *Nutrição no Exercício e no Esporte*. São Paulo: Ed. Roca, 1996, pp.69-90.
- WONG, B.K., Chan H.C., Corocoran G.B. "Selective effects of N-acetyl cysteine stereoisomers on hepatic glutathion and plasma sulfate in mice". *Toxicol Appl Pharmacol*, 1986; 86: 429.
- XU, J. et al. "Sterol regulatory element bindin protein-1 expression in suppressed by dietary polyunsaturated fatty acids mechanism for the coordinated suppression of lipogenic genes of polyunsaturated fat". *J. Bio. Chem.*, 2000; 274:23577-23583.
- YAGO, MD.; et al. "The enzyme secretion in response to test meals differing in the quality of dietary fat (olive and sunflower oil) in human". *SubjectB. J. Nutr.* 1997; 78:27-39.
- YEN, T.C., CHEN, Y.S., KING, K.L., YEH, S.H., WEI, Y.H. "Liver mitochondrial respiratory functions decline with age". *Biochem Biophys Res Commun* ,1989; 165: 994- 1003.
- YOKOYAMA, H., Lingle DM, Crestanello JA y col.: Coenzyme Q10 protects coronary endothelial function from ischemia reperfusion injury via an antioxidant effect. *Surgery* 1996;120: 189-196.
- ZERBA, E., Komorowski T.E., Faulkner J.A. "Free radical injury to skeletal muscles of young, adult, and old mice". *Am J Physiol*, 1990; 258: C429-C435.
- ZGLINICKI, T., Burkle, A., Kirkwood, T. B. L., Stress, DNA damage and ageing - an integrative approach. *Exp. Gerontol.*, 36, 1049-1062, 2001.
- ZULIANI, U., Bonetti M., Campana G., Cerioli G., Solito F., Novarini A. "The influence of ubiquinone (CoQ10) on the metabolic response to work". *J Sports Med Physical Fitness*, 1989; 29: 57-62.