

R. 41.394

UNIVERSIDAD DE MURCIA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA Y FARMACOLOGÍA
UNIDAD DE FISIOLÓGIA ANIMAL



UNIVERSIDAD DE MURCIA



1568170



**INFLUENCIA DE DISTINTOS GLÚCIDOS Y LÍPIDOS EN LA DIETA
SOBRE ASPECTOS DEL METABOLISMO LIPÍDICO EN LA RATA**

21 NOV. 1994



JOSÉ ÁNGEL LÓPEZ JIMÉNEZ
MURCIA, DICIEMBRE 1994

UNIVERSIDAD DE
MURCIA





UNIVERSIDAD DE MURCIA
FACULTAD DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA Y FARMACOLOGIA

D. SALVADOR ZAMORA NAVARRO, Catedrático de Fisiología del departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad de Murcia.

CERTIFICA

Que la presente Tesis Doctoral titulada "INFLUENCIA DE DISTINTOS GLÚCIDOS Y LÍPIDOS EN LA DIETA SOBRE ASPECTOS DEL METABOLISMO LIPÍDICO EN LA RATA" ha sido realizada bajo su dirección por el licenciado **JOSÉ ÁNGEL LÓPEZ JIMÉNEZ**, como trabajo para optar al grado de Doctor, hallándose concluida y reuniendo, a su juicio, las condiciones de originalidad y rigor científicos, autoriza su presentación a fin de que pueda ser defendida ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste expido y firmo el presente certificado en Murcia a quince de Noviembre de mil novecientos noventa y cuatro.

21 NOV. 1994



Fdo. **SALVADOR ZAMORA NAVARRO**





UNIVERSIDAD DE MURCIA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA
Y FARMACOLOGÍA
30.100 MURCIA (ESPAÑA)
RECTOR: PROF. DR. T. QUESADA

D. TOMÁS QUESADA PÉREZ, Director del Departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad de Murcia.

CERTIFICA

Que de acuerdo con la normativa vigente para estudios de Tercer ciclo, la Tesis Doctoral titulada "INFLUENCIA DE DISTINTOS GLÚCIDOS Y LÍPIDOS EN LA DIETA SOBRE ASPECTOS DEL METABOLISMO LIPÍDICO EN LA RATA" ha sido realizada por el licenciado **JOSÉ ÁNGEL LÓPEZ JIMÉNEZ** y de la que es director **Dr. SALVADOR ZAMORA NAVARRO**, reúne las condiciones precisas para ser presentada y defendida.

Y para que así conste expido y firmo el presente certificado en Murcia a quince de Noviembre de mil novecientos noventa y cuatro.



Edo. **TOMÁS QUESADA PÉREZ**



A mis padres

A mi sobrino Rafa

Una vez finalizado el trabajo quisiera agradecer profunda y sinceramente a todas aquellas personas o entidades que, de algún modo, han prestado su colaboración técnica o personal, para que esto fuera posible.

En primer lugar a Salvador Zamora Navarro, no sólo por la dirección de esta Tesis sino por su apoyo, consejo y dedicación que, en todo momento y a lo largo de muchos años, me ha prestado.

A la Consejería de Cultura de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia, por haberme concedido una beca de Formación de Personal Investigador que me ha permitido la realización de mi trabajo de investigación. A Antonio Mula por el interés y apoyo que siempre ha mostrado hacia los Becarios en sus múltiples problemas.

A la empresa Hero España S.A., por el apoyo humano y material prestado para la realización de esta Tesis.

A todos los miembros del Departamento de I+D de PULEVA, en especial a Jesús Jiménez y a Julio Boza por enseñarme las técnicas de cromatografía y sus trucos. También por los buenos momentos que pasé trabajando a su lado.

A los miembros del Departamento de Biología Celular de la Facultad de Biología, Blanca Agulleiro, Marcelino, Marisa, Pili y M^a Angeles, M^a Teresa Lozano "Lozana", por la ayuda prestada en la realización de los análisis histológicos; a Alfonso por sus tranquilizadores consejos y especialmente a Antonio López "Antoñico" porque es magnífico.

Al Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Granada, en especial a D. Fermín Sánchez de Medina y a José Luis Periago por su valiosa ayuda.

A Manolo Canteras, por sus consejos para el análisis estadístico de los datos.

A Belén, por todo el apoyo documentalista que me ha prestado y por su siempre agradable compañía.

A Gonzalo, por ayudarme en todo el tratamiento estadístico de esta Tesis.

A Jorge de Costa, por sus críticas opiniones y consejos. Por sus conocimientos en informática y por la infinita paciencia que ha mostrado a la hora de enseñarnoslos. Por cada vez que me he quedado "colgado" delante del ordenador, que no han sido pocas, y siempre me ha ayudado a descolgarme a la voz de "de Costa" y con buen agrado.

A Clara Rueda, por haber trabajado conmigo durante muchas horas, muchas ratas, muchos

ácidos grasos y alguna explosión. Por su amistad y por los grandes y buenos momentos que hemos pasados juntos dentro y fuera del contexto de esta Tesis. Gracias "Amor".

A Javier como compañero incondicional, por su simpatía y sus duras opiniones, que en muchas ocasiones me han hecho superar lo que parecía imposible.

A Paquita por su compañerismo, su buena disposición y ayuda en éste y otros trabajos.

A Fina Conejero por su ayuda y compañerismo cuando fue mi Tesinanda.

A Pilar Mendiola, Juan Francisco, Juan Antonio, Lola, Paco Porto, y al resto de los miembros de la unidad de Fisiología Animal, sigan o no aún aquí, que me han ayudado con simpatía, compañerismo y buena disposición. A Paco Rueda "qué razón tenías".

A Paco por su inestimable ayuda a la hora de mantener siempre a punto toda la infraestructura y los animales que necesité y por su simpatía.

En especial, a Pilar, Clara y Carlos porque desde que empezamos juntos este camino supieron siempre escuchar, comprender, darme ánimos y enseñarme. Por las horas de despacho y laboratorio juntos, buenos momentos, discusiones y peleas que hicieron agradable este trabajo, en ocasiones duro. Por haber estado a mi lado, ayudarme y por su amistad, gracias.

A Manuel Granados por haber tenido la valentía de ilustrar este trabajo con ocho maravillosas obras.

A mis hermanos y a todos mis amigos por su apoyo material, moral y humano, a Paco Díaz por su amistad, reparaciones de moto, flejes y carcasas, a Baena, Octavio y "Ciclón" Carrión por su ánimo, ofrecimiento constante, prisas y preocupación, a Manola por su amistad y saber soportarme en las malas rachas, a Olimpia y a Piluchi por esos veranos "de la berenjena" sufridos, que me han empujado hacia delante todos estos años, y a todos aquellos que, de una forma desinteresada, han contribuido a la realización de este trabajo.

A todos y cada uno de ellos, muchas gracias.

Deseo finalmente agradecer de una forma especial, los sacrificios personales y el apoyo constante e incondicional mostrado durante todos estos años, en silencio y con un gran cariño, por mi madre y por mi padre, por haber estado junto a mi, en los peores y en los mejores momentos. Por todo lo bueno que han sabido aportar a mi vida, de todo corazón, gracias.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AGL: ácidos grasos libres

apo: apoproteína

ALAT: alanina aminotransferasa

ASAT: aspartato aminotransferasa

BHT: butilhidroxitolueno

CEC: coeficiente de eficacia en crecimiento

C.M.: cuadrado medio

EC: ésteres de colesterol

g.l.: grados de libertad

GOT: aspartato aminotransferasa

GPT: alanina aminotransferasa

γ -GT: γ -glutamilttransferasa

HDL: lipoproteína de alta densidad

IEA: índice de eficacia alimentaria

LDL: lipoproteína de baja densidad

MELN: materia extractiva libre de nitrógeno

PAL: fosfatasa alcalina

PL: fosfolípidos

RHS: relación hepatosomática

S.C.: suma de cuadrados

S.F.: sustancia fresca

S.S.: sustancia seca

TG: triglicéridos

VLDL: lipoproteína de muy baja densidad

S10 O4: dieta realizada con sacarosa al 10% y aceite de oliva al 4%

S10 M4: dieta realizada con sacarosa al 10% y margarina al 4%

S10 P4: dieta realizada con sacarosa al 10% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%

F10 O4: dieta realizada con fructosa al 10% y aceite de oliva al 4%

F10 M4: dieta realizada con fructosa al 10% y margarina al 4%

F10 P4: dieta realizada con fructosa al 10% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%

G10 O4: dieta realizada con fructosa al 10% y aceite de oliva al 4%

G10 M4: dieta realizada con fructosa al 10% y margarina al 4%

G10 P4: dieta realizada con fructosa al 10% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%

S30 O4: dieta realizada con sacarosa al 30% y aceite de oliva al 4%

S30 M4: dieta realizada con sacarosa al 30% y margarina al 4%

S30 P4: dieta realizada con sacarosa al 30% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%

GF30 O4: dieta realizada con glucosa/fructosa al 30% y aceite de oliva al 4%

GF30 M4: dieta realizada con glucosa/fructosa al 30% y margarina al 4%

GF30 P4: dieta realizada con glucosa/fructosa al 30% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%

S10 O13 : dieta realizada con sacarosa al 10% y aceite de oliva al 13%

S10 M13 : dieta realizada con sacarosa al 10% y margarina al 13%

S10 P13 : dieta realizada con sacarosa al 10% y aceite de palmiste hidrogenado al 13%

azúcar 1: sacarosa 10%

azúcar 2: fructosa 10%

azúcar 3: glucosa 10%

azúcar 4: sacarosa 30%

azúcar 5: glucosa/fructosa 30%

grasa 1: aceite de oliva 4%

grasa 2: margarina 4%

grasa 3: aceite de palmiste hidrogenado 4%

grasa 4: aceite de oliva 13%

grasa 5: margarina 13%

grasa 6: aceite de palmiste hidrogenado 13%

ÍNDICE	Pág.
1. OBJETO	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1.- INFLUENCIA DE DIFERENTES NUTRIENTES SOBRE LA INGESTA DE ALIMENTO Y EL CRECIMIENTO	5
2.1.1.- INFLUENCIA DE LOS GLÚCIDOS	5
2.1.2.- INFLUENCIA DE LOS LÍPIDOS	10
2.2.- ALGUNOS ASPECTOS DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA	18
2.2.1.- ORGANIZACIÓN HISTOLÓGICA Y FUNCIONAL DEL HÍGADO	18
2.2.2.- PRUEBAS DE INTEGRIDAD HEPÁTICA	29
2.3.- INFLUENCIA DE DIFERENTES NUTRIENTES SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL HÍGADO	37
2.3.1.- INFLUENCIA DE LOS GLÚCIDOS	37
2.3.2.- INFLUENCIA DE LOS LÍPIDOS	51
2.4.- INFLUENCIA DE DIFERENTES NUTRIENTES SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO DEL PLASMA	69
2.4.1.- INFLUENCIA DE LOS GLÚCIDOS	69
2.4.2.- INFLUENCIA DE LOS LÍPIDOS	80
2.5.- INFLUENCIA DE LA DIETA SOBRE LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DEL PLASMA	99
3.- MATERIALES Y MÉTODOS	119
3.1.- DISEÑO EXPERIMENTAL	120
3.2.- ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	122
3.2.1.- DESARROLLO DE LOS EXPERIMENTOS	122
3.3.- DIETAS EXPERIMENTALES	123
3.3.1.- COMPOSICIÓN Y AJUSTE DE LAS DIETAS	123
3.3.2.- COMPOSICIÓN PORCENTUAL EN MACRONUTRIENTES DE LAS DIETAS	128
3.4.- CÁLCULO DE INDICES BIOLÓGICOS Y BIOMÉTRICOS	129
3.5.- TÉCNICAS ANALÍTICAS	129
3.6.- PROCESAMIENTO PARA MICROSCOPIA ÓPTICA	140

3.7.- TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	143
4.- RESULTADOS	144
5.- DISCUSIÓN	240
5.1.- SOBRE LA INGESTA E INCREMENTO DE PESO	241
5.2.- SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL HÍGADO	252
5.3.- INFLUENCIA DE LA DIETA SOBRE ALGUNOS ENZIMAS PLASMÁTICOS	257
5.4.- SOBRE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE ALGUNOS METABOLITOS	263
5.5.- INFLUENCIA DE LA DIETA SOBRE LOS ÁCIDOS GRASOS PLASMÁTICOS	269
6.- CONCLUSIONES	285
7.- BIBLIOGRAFÍA	288



1.- OBJETO

Desde hace algún tiempo se discute acerca de la repercusión que los distintos tipos de azúcares simples tienen sobre la ingesta, desencadenando conductas de una mayor o menor aceptación del alimento a través exclusivamente de respuestas organolépticas y no vía de modificación de procesos de utilización sean estos anabólicos o catabólicos. Sin embargo y como puede observarse en la amplia bibliografía consultada, no siempre las proporciones de los azúcares eran semejantes o en su caso equivalentes desde el punto de vista energético o lo que es más importante aún, los componentes de las dietas eran diferentes no solo a nivel del componente glucídico, lo que hacía más difícil la interpretación al encontrarnos con más de una variable que oscila simultáneamente, tal era el caso de la fracción lipídica de la ración, que unas veces procedía de un solo tipo de grasa, fuese animal o vegetal, otras veces mezcla y en la mayoría de los casos no se mantenía a un nivel constante. Por ello en unos casos una determinada dieta incidía en un sentido sobre el perfil plasmático y el crecimiento, otras lo hacían en sentido contrario y en algunos casos se producían modificaciones que eran explicables y en otros situaciones muy contradictorias.

También es frecuente encontrar en la literatura acerca del destino metabólico de determinados nutrientes y la existencia de caminos muy específicos para algunos procesos que establecen una relación causa-efecto entre la ingesta de determinados substratos y los cambios en el colesterol, las HDL o LDL, por ejemplo.

A nosotros nos parece que existe un alto grado de confusionismo en estas afirmaciones, que la mayor parte de las veces se extraen de hechos puntuales y no generales y que en general el organismo dispone de medios y sistemas para evitar que los niveles de la mayor parte de los metabolitos cambien de forma notable, y que cuando esto ocurre aparece una situación tan llamativa como es la enfermedad.

A nosotros nos parecería raro que los niveles plasmáticos de glucosa se mantuviesen relativamente constantes, por su importancia fisiológica, obviamente, incluso tras una ingesta rica en glúcidos se recupera la euglicemia en un tiempo no superior a las dos horas. Y sin embargo tras la ingesta de una determinada grasa, colesterol o algunos azúcares se producen unos cambios enormes en los niveles de algunos metabolitos como por ejemplo el colesterol, cuando este tiene tanta importancia, si es que se puede hablar así, como para la glucosa, para una serie de procesos fisiológicos de distinta naturaleza, e igual podría decirse sobre

alguno, o en la mayoría de los ácidos grasos.

Por tanto cabría pensar si existe sistemas reguladores, que los hay, que los niveles de los glúcidos y lípidos ingeridos, si no sobrepasan las ingestas energéticas recomendadas, no deben modificar de forma notable las características típicas de cada especie, al menos a nivel plasmático y podría quizás esperarse algún cambio en los depósitos. Por ello nos hemos planteado inicialmente como objetivo el hígado y el compartimento plasmático desde un punto de vista muy específico, el primero como encrucijada metabólica y el segundo como el lugar donde se resume el conjunto de los procesos. Y desde el punto de vista general nos hemos planteado el estudiar el aprovechamiento nutritivo de las diferentes dietas.

Para llegar a esclarecer o alcanzar estos objetivos se han diseñado dieciocho dietas diferentes que dan lugar a seis grupos de experimentos.

Por un lado para diferenciar la influencia nutritiva de tres azúcares sencillos, glucosa, fructosa y sacarosa y tres tipos de grasa, aceite de oliva, margarina y aceite de palmiste hidrogenado, se ha planteado un diseño en cuadrado latino que permitirá estudiar la repercusión de cada uno de ellos. Es decir del tipo de glúcido y de la grasa sobre distintos aspectos del metabolismo, haciendo especial hincapié en el lipídico.

Y por otro, una vez establecidas las modificaciones que inducían el tipo de glúcido y el de lípido, aumentar el nivel del glúcido en la dieta y estudiar su repercusión, también elevar el nivel de los lípidos para hacer lo mismo. Se trataría por tanto de elucidar la influencia de un aumento del nivel de energía de la dieta y de su origen sobre las mismas facetas del metabolismo contempladas anteriormente.

En su conjunto este planteamiento a través de los cambios histológicos del hígado, los enzimáticos y bioquímicos del plasma y los procesos de crecimiento en los animales, podría aportar la información precisa para aclarar algunas cuestiones planteadas. Sobre todo si pensamos que en su conjunto ha sido necesario realizar dieciocho experimentos utilizando un total de ciento ochenta animales y más de cuatro mil doscientas determinaciones analíticas además del seguimiento de la ingesta y del crecimiento ponderal.

2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1.- INFLUENCIA DE DIFERENTES NUTRIENTES SOBRE LA INGESTA DE ALIMENTO Y EL CRECIMIENTO.

2.1.1.- INFLUENCIA DE LOS GLÚCIDOS.

Los estudios en animales han demostrado que los distintos carbohidratos pueden tener distintos efectos sobre la ingesta y el peso corporal (RAMIREZ, 1987).

Normalmente, es difícil distinguir los efectos de la composición de la dieta sobre las variables metabólicas asociadas con la ingesta calórica total porque, variando la composición de la dieta, generalmente se altera la palatabilidad del alimento y, por tanto, la ingesta energética (DESHAIES *et al.*, 1984).

El estudio ideal podría ser uno en el cual los animales fueran nutridos con dietas adecuadas, que solo se diferenciaran entre sí en la proporción relativa de sacarosa y almidón. Así, se podría establecer sin ambigüedad el efecto de la sacarosa, ya que hasta ahora, la comparación de dietas de roedores conteniendo sacarosa o almidón han producido resultados inconsistentes (RAMIREZ, 1987); pues algunas veces ingiriendo una dieta rica en sacarosa se ha incrementado la ganancia en peso (DESHAIES *et al.*, 1983), la adiposidad y la ingesta (MARSHALL *et al.*, 1969; WILLIAMS y SZEPESI, 1983; OSCAI *et al.*, 1987), mientras que otras veces aumenta el peso y la grasa corporal, pero no la ingesta (MICHAELIS *et al.*, 1983; 1984), o bien, la ingesta no se ve afectada y disminuyó el incremento de peso (AL-NAGDY *et al.*, 1966; 1970; WINAND y CRISTOPHE, 1977). MacRAE *et al.* (1974) observaron que una dieta conteniendo 40% del total de calorías como sacarosa fue suficiente para estimular la ganancia en peso; otros investigadores sugieren que son necesarias cantidades mayores de sacarosa para producir algún efecto (COHEN y TEITELBAUM, 1964), sin embargo en otros trabajos no se hallaron diferencias entre los parámetros citados, suministrando un 66% (LEE *et al.*, 1987) o un 54% (ELLWOOD *et al.*, 1991) de sacarosa, fructosa, glucosa o almidón en la dieta.

Por otra parte, COHEN *et al.* (1970) y COHEN y TEITELBAUM (1966) observaron mejor utilización, mayor ingesta y mayor ganancia en peso corporal (BATLES *et al.*, 1991), en el caso de dietas que contenían almidón que con las que contenían sacarosa; mientras que PURDOM *et al.* (1972) observaron un efecto opuesto. Menores ingestas pero mayores crecimientos se han observado en

ratas alimentadas con sacarosa cuando se las compara con otras que han consumido un pienso comercial (DESHAIES, 1986) o no son observadas modificaciones en el crecimiento (YAMAMOTO *et al.*, 1987; ONTKO y WANG, 1989). Otros autores no encontraron diferencias en los diferentes parámetros entre las dietas ricas en almidón y las dietas con sacarosa (MARSHALL *et al.*, 1969; QURESHI *et al.*, 1970; KANG *et al.*, 1982; NAIM *et al.*, 1985; VAN AMELSVOORT *et al.*, 1988; McDONALD, 1990; PFEUFFER y BARTH, 1992), ni en ratas de diferentes edades con los mismos patrones dietéticos (HARA *et al.*, 1992).

Utilizando dietas con glucosa como fuente de carbohidratos, se ha observado que se produce una menor ganancia en peso que con las dietas con sacarosa (FEYDER, 1935; ALLEN y LEAHY, 1966; BERDANIER, 1974; MacRAE *et al.*, 1974; WILLIAMS y SZEPESEI, 1983), similar ganancia en peso (MacRAE *et al.*, 1974; WATERMAN *et al.*, 1975) o mayor ganancia de peso (WINAND y CRISTOPHE, 1977).

Con fructosa se ha observado similar ingesta y similar ganancia de peso que con las dietas conteniendo sacarosa (REUSSNER *et al.*, 1963; ALLEN y LEAHY, 1966); aunque otros autores han encontrado menor ganancia en peso con fructosa (MacRAE *et al.*, 1974; WATERMAN *et al.*, 1975; WINAND y CRISTOPHE, 1977).

A veces, las dietas conteniendo sacarosa producen mayor ganancia en peso que las dietas conteniendo glucosa y fructosa en cantidades equimoleculares (MICHAELIS *et al.*, 1978; 1980; 1981; WILLIAMS y SZEPESEI, 1983; SCLAFANI, 1988), aunque LAUBE *et al.* (1973) no encontraron efectos semejantes. El efecto del disacárido no es obtenido siempre y ha sido descrito como un fenómeno frágil (SCLAFANI, 1988).

La sustitución de fructosa por glucosa en la dieta no tuvo efectos sobre la ingesta y ganancia de peso corporal en diversos estudios (AOYAMA *et al.*, 1980; SCHRIJVER y PRIVETT, 1983; HERZBERG y ROGERSON, 1988a; BERGSTRÄ *et al.*, 1993); aunque en otros, el efecto de la glucosa fue mayor que el de la fructosa, aumentando más la ingesta y la ganancia de peso corporal (AOYAMA *et al.*, 1987) o hubo una tendencia a disminuir la ingesta en las ratas alimentadas con fructosa (HERZBERG y ROGERSON, 1992), sin modificaciones en el crecimiento (HERZBERG y ROGERSON, 1988b).

En los distintos estudios los investigadores han usado diferentes razas de

ratas. Existen trabajos en los que se indica que algunas de las razas de roedores usadas habitualmente en el laboratorio, responden de manera diversa a los glúcidos de la dieta (AOYAMA *et al.*, 1987; RAMIREZ, 1987).

Los estudios suministrando el glúcido disuelto en el agua de bebida, usualmente muestran que la sacarosa incrementa la ingesta calórica, la ganancia de peso y la adiposidad (KANAREK y HIRSCH, 1977; CASTONGUAY y HIRSCH, 1981; VALLERAND *et al.*, 1986; KANAREK *et al.*, 1987). En otros estudios la disponibilidad de la solución con sacarosa no tuvo efecto sobre la ingesta calórica total (FRIEDHOFF *et al.*, 1971; KENNEY y COLLIER, 1976; TEAGUE *et al.*, 1981), aunque incrementó la ganancia de peso (SCLAFANI y XENAKIS, 1984a; 1984b), pero con glucosa o fructosa no se observaron diferencias (HIRANO *et al.*, 1988).

A veces la solución azucarada parece que hace disminuir significativamente la ingesta calórica total y el peso corporal. Trabajos en los que se administró una solución de sacarosa (HAMILTON, 1971), o de glucosa (SCLAFANI, 1973) se mostró una disminución en el peso.

Las ratas que toman una solución azucarada reducen la ingesta de comida, parcialmente compensada por las calorías del azúcar (RAMIREZ, 1987), pues la palatabilidad de la solución conduce a la rata a consumir grandes cantidades de esta fuente de energía. De cualquier modo, el nivel de proteína de la dieta, así como las vitaminas, el contenido mineral (KANAREK *et al.*, 1987), la disponibilidad y composición de los macronutrientes de la misma (SCLAFANI, 1988) influyen sobre el consumo de sacarosa.

De cualquier modo, la ganancia de peso producida por la fuente de carbohidratos es completamente reversible; las ratas pierden su exceso de peso cuando vuelven a la dieta comercial solamente (SCLAFANI y XENAKIS, 1984a).

Parece ser que, además de las condiciones experimentales (SCALERA, 1992), la forma de la dieta es una variable importante, que afecta al comportamiento alimentario de las ratas y sus posteriores repercusiones.

Los glúcidos pueden ser ofrecidos a los animales básicamente bajo dos formas en la dieta, en polvo como constituyente de una dieta semisintética y diluidos en agua o hidratados en forma de gel, proporcionados separadamente del resto de la dieta (RAMIREZ, 1987). Ambos métodos producen resultados diferentes sobre la ingesta, el crecimiento y la adiposidad de las ratas.

Así, cuando los glúcidos son suministrados del primer modo, con distintas

proporciones de sacarosa en la dieta, aparece una gran variabilidad de resultados, aumentos en la ingesta y crecimiento, incluso apareciendo obesidad; o lo contrario, una reducción en la ingesta calórica; o lo más usual, que no se altere la misma, pero en ciertos casos, aún cuando no se eleva la ingesta calórica, dietas altas en azúcares causan incrementos en el peso corporal y/o en la grasa del animal (SCLAFANI, 1987).

Cuando los glúcidos son ofrecidos de forma hidratada y separadamente del resto de la dieta los resultados parecen ser más consistentes, las ratas consumen más calorías, se incrementa entre un 10% y un 20%, ganan más peso y depositan más grasa corporal (RAMIREZ, 1987).

Varios estudios han demostrado que los carbohidratos promueven mayor incremento, en la ingesta y peso corporal, cuando presentan forma hidratada (solución o gel) que en la forma de polvo (KANAREK y ORTHEN-GAMBILL, 1982; SCLAFANI y XENAKIS, 1984; SCLAFANI, 1987, 1988). Pero no se encuentran diferencias en la ingesta calórica, crecimiento y adiposidad entre los distintos azúcares estudiados, glucosa, fructosa y sacarosa, (KAZUMI *et al.*, 1986; SCLAFANI, 1987), almidón y polisacáridos (SCLAFANI *et al.*, 1988) y la variabilidad de los resultados puede ser atribuida a diferencias sexuales o a la edad de los animales (SCLAFANI, 1987).

Además de la forma en que se administran, factores postingestivos, como la tasa de absorción, osmolaridad..., influyen en el apetito y la ingesta de los glúcidos por las ratas (SCLAFANI *et al.*, 1988; 1993), pues las formas hidratadas (geles o soluciones) son absorbidas y digeridas más rápidamente que la forma en polvo; así, preparando los carbohidratos en gel podrían facilitar la digestión, porque incrementan el porcentaje de vaciado gástrico y/o facilitan la acción de las enzimas digestivas (SCLAFANI *et al.*, 1988). Además de estos y otros factores postingestivos, las hormonas gastrointestinales parece que juegan un papel importante en la regulación del tamaño de la ingesta (FORBES, 1992; RAYNER, 1992) y, al menos en roedores, en la modulación del metabolismo energético, modificando la actividad del tejido adiposo pardo (MORLEY, 1990).

Otro de los factores que afectan a la ingesta de carbohidratos es su sabor. Es conocido que las ratas se sienten muy atraídas por el sabor dulce de los azúcares (RAMIREZ, 1987), pero también tienen una apetencia muy grande por los almidones y sus derivados (SCLAFANI *et al.*, 1988; RAMIREZ, 1992, 1993, 1994). Presumiblemente las ratas y otros roedores poseen dos subsistemas del

gusto para los carbohidratos, recientes hallazgos electrofisiológicos apoyan esta idea (SCLAFANI, 1991). El sistema para el sabor dulce es estimulado por sacarosa, fructosa, glucosa y edulcorantes; por otro lado, poseen receptores que son estimulados por almidones, maltopolisacáridos, maltooligosacáridos, maltosa y glucosa (SCLAFANI, 1988).

Aunque algunos de los efectos pueden ser confundidos por otras variables, como es la proporción proteína/carbohidrato de la dieta, bajo ciertas condiciones, las ratas alimentadas con dietas altas en sacarosa, se ha observado un incremento del gasto energético, debido a un aumento del tamaño y de la actividad del tejido adiposo marrón (KANAREK *et al.*, 1987) y esto podría explicar el por qué algunas veces altas ingestas de sacarosa producen menores ganancias de peso (SCLAFANI, 1988), aunque en otros estudios no se han observado variaciones del gasto energético, ni de la ganancia de peso y ni en el tamaño del tejido adiposo pardo entre ratas alimentadas con altas cantidades de almidón o sacarosa (STORLIEN *et al.*, 1988); por otro lado, las dietas altas en glucosa, pero no en fructosa, han inducido una respuesta trófica en el tamaño y la funcionalidad del tejido adiposo pardo en ratas (SZEPESI, 1992).

Una posible aproximación de los mecanismos que operan sobre el control de la ingesta, cuando el glúcido es suministrado junto a la dieta en polvo, estaría relacionado con los efectos de los glúcidos sobre el almacenamiento y oxidación de las grasas. La hipótesis supone que la oxidación de combustibles metabólicos inhibe la ingesta (RAMIREZ, 1990; BOOTH, 1992; FORBES, 1992) mientras que, el almacenamiento en el tejido adiposo limita la disponibilidad de los mismos para la oxidación y, por tanto, estimula la ingestión de alimentos. La sacarosa aumenta la síntesis de lípidos en el hígado y, por tanto, puede aumentar la deposición de los mismos y la ingesta; por el contrario, puede reducir la lipogénesis en tejido adiposo y así reducir la ingesta. El balance entre estos dos efectos opuestos de la sacarosa haría que la misma estimulase o redujese la ingesta y explicaría parte de los resultados contradictorios (RAMIREZ, 1987).

Existen evidencias de que la tasa de oxidación de ácidos grasos en el hipotálamo ventrolateral responde inversamente al estado de los almacenes de grasa periférica y de que altas o bajas tasas de oxidación en esta zona pudieran ser un componente importante en la regulación de la ingesta, provocando respectivamente las respuestas compensatorias hiper o hipofágicas (KASSER *et al.*, 1989).

2.1.2.-INFLUENCIA DE LOS LÍPIDOS

Los distintos estudios realizados con ratas han demostrado que la cantidad y el tipo de grasa de la dieta pueden tener diversos efectos sobre la ingesta y el peso corporal (OSCAI *et al.*, 1987; McGEE y GREENWOOD, 1990; TRAYHURN, 1992).

Un aumento de la ingesta calórica (HERZBERG y ROGERSON, 1992), del peso corporal, y una disminución de la cantidad de alimento ingerido (HERZBERG y ROGERSON, 1988a) se ha observado en ratas cuando se suministró aceite de maíz en la dieta frente a otras que consumieron una dieta exenta de grasa. Estos mismos autores no observaron modificaciones en la ingesta o en el peso de los animales alimentados con tres tipos de grasas diferentes (HERZBERG y ROGERSON, 1988b).

Sí se ha encontrado un aumento del consumo energético en ratas alimentadas con dietas ricas en grasa (MELA *et al.*, 1987) o del peso corporal en ratas alimentadas con dietas ricas en aceite de coco, de girasol o de pescado frente a otras alimentadas con un pienso comercial, con dietas ricas en sacarosa o ricas en sacarosa/almidón y pobres en grasa (HØSTMARK *et al.*, 1989; HARRIS y KOR, 1992; ERSKINE *et al.*, 1994). Pero otros investigadores no han observado ni hiperfagia, ni modificaciones en el peso de la carcasa, o en el consumo energético de animales alimentados con los anteriores patrones dietéticos (OSCAI *et al.*, 1987) o aumentando la cantidad de grasa de la dieta (40%, 50% y 60%) (OSCAI *et al.*, 1984). Tampoco se ha hallado ningún efecto sobre el peso corporal, pero sí se detectaron menores ingestas de alimento (BEYNEN, 1987) o de la ingesta calórica, pero no estadísticamente significativa, (LAIRON *et al.*, 1987) en ratas alimentadas con altas proporciones de grasa en las dietas. De igual manera, no se vio afectado el crecimiento de ratas alimentadas con diferentes dietas en las que se variaba tanto la fuentes glucídica y lipídica, como la proporción carbohidrato/grasa de las mismas (VAN AMELSVOORT *et al.*, 1988).

No se observaron variaciones en el crecimiento o en la eficacia alimentaria en dos grupos de ratas alimentadas con dietas ricas en aceite de maíz o con altas cantidades de sacarosa, únicamente se halló una disminución de la cantidad de alimento ingerido en el primer grupo de animales (DESHAIES *et al.*, 1984; DESHAIES, 1986).

El contenido de la dieta de triglicéridos de cadena larga o de cadena media no tuvo ningún efecto sobre la ingesta de alimento o la ingesta energética. Sin embargo, las ratas que consumieron dietas con bajas proporciones de grasa en la dieta o grasa rica en triglicéridos de cadena media ganaron menos peso (CHANEZ *et al.*, 1991) o no se hallaron diferencias ni en el crecimiento, ni en la eficacia alimentaria, respecto a un pienso comercial o dietas con altas cantidades de aceite de coco (ZSINKA *et al.*, 1988), pero si se encontró que los animales que consumieron dietas ricas en aceite de girasol, tuvieron mayores incrementos en su crecimiento (ZSINKA *et al.*, 1987).

Por el contrario ratas alimentadas con dietas ricas en aceite de pescado o de girasol presentaron un menor incremento en el peso (YAMAZAKI *et al.*, 1987) o no se hallaron diferencias en el mismo (RUSTAN *et al.*, 1992) que en las alimentadas con un pienso comercial, sin embargo la ingesta calórica fue similar en todos los grupos de ratas, pero el alimento ingerido fue menor en aquellos alimentados con los aceites. Resultados similares a los anteriores se obtuvieron cuando se les suministró a las ratas aceite de girasol, de coco o manteca en dos proporciones distintas en la dieta (ZSINKA *et al.*, 1987). Ratas alimentadas con diferentes cantidades de manteca de coco en la dieta 10%, 20% y 30%, usando como control una dieta con un 10% de aceite de maíz, no mostraron diferencias en su crecimiento y desarrollo. Pero en los animales que consumieron la dieta con mayor cantidad de grasa, se detectó una reducción de la ingesta (MORRISSEY *et al.*, 1986).

Otros investigadores han observado que las ratas alimentadas con dietas ricas en aceite de soja obtenían mejores crecimientos, que otras a las que se les suministró aceite de colza. Pero cuando se suplementaban ambos aceites con grasa saturada se mejoraba el crecimiento de los animales. La ingesta parece aumentar aún cuando las diferencias no fueron estadísticamente significativas (FARNWOTH y KRAMER, 1983). Posteriormente, estos mismos investigadores mostraron que cuando se aumenta la proporción (5%, 10% y 20%) de diferentes tipos de grasa (saturada, moderadamente saturada e insaturada) en dietas isocalóricas, se ha observado que las ratas a las que se les suministraron las dietas con mayores cantidades de grasa menos saturada, presentaron una menor ganancia de peso y consumieron una menor cantidad de alimento y en las que consumieron las dietas con las grasas más saturadas la ingesta fue mayor (FARNWOTH y KRAMER, 1987). Sin embargo, otros autores no han detectado cambios significativos en la

ingesta y en el crecimiento, con las anteriores proporciones de grasa en la dieta y con dos fuentes lipídicas diferentes: aceite de maíz y aceite de coco. Pero a diferencia de los anteriores las dietas no eran isocalóricas (APGAR *et al.*, 1987). Tampoco hallaron diferencias en la media del incremento de peso, entre grupos de ratas alimentadas con varias proporciones de distintas grasas, aceite de oliva, manteca y aceite de cacahuete, en la dieta (STEEL *et al.*, 1990).

Sí ha sido observado una mayor ingesta diaria en ratas en relación con el contenido de ácido esteárico de la dieta. Así, cuanto mayor era el contenido del mismo las ratas comieron más cantidad, pero no se detectaron cambios ni en el peso final de los animales, ni en la ganancia del mismo (MONSMA y NEY, 1993). Algunos trabajos aportan evidencias de que en ratas, diferencias cualitativas en los ácidos grasos de la dieta, están asociadas con cambios en el comportamiento alimentario en relación a la selección de macronutrientes. Específicamente, las ratas que ingieren una mayor cantidad de ácidos grasos saturados, seleccionan dietas con una mayor cantidad de proteína y menor cantidad de glúcidos. Sin embargo, no se han encontrado cambios en la selección de macronutrientes, relacionados con la cantidad de ácidos grasos monoinsaturados, poliinsaturados o con la cantidad relativa o absoluta de ácidos grasos esenciales en la dieta (McGEE y GREENWOOD, 1990).

Un mayor peso en los animales se detectó cuando se utilizó como fuente de grasa en la dieta aceite de salmón en lugar de aceite de maíz o una dieta con bajas cantidades de grasa aunque, los resultados no fueron estadísticamente significativo, (CHAUTAN *et al.*, 1990). Contrariamente, el peso final de animales alimentados durante 26 semanas con dietas ricas en grasas poliinsaturadas fue menor que los de los animales a los que se les suministraron dietas ricas en grasa saturada (SHILLABEER *et al.*, 1990) o en ratas alimentadas con aceite de pescado frente a otras que consumieron aceite de maíz, soja u oliva. No hallándose diferencias en la ingesta de alimento (RUIZ-GUTIERREZ, *et al.*, 1990).

No se detectaron diferencias en el peso de ratas alimentadas con distintos tipos de grasa en la dieta, manteca, aceite de maíz, aceite de pescado y una grasa rica en triglicéridos de cadena media, pero si se observó una menor ingesta calórica en el grupo de ratas alimentado con aceite de pescado (HILL *et al.*, 1993); o en ratones alimentados con aceite de maíz frente a las que se les suministró manteca (TRAYHURN, 1992).

Diversos autores afirman que la composición de los ácidos grasos de la dieta no tiene efecto sobre el peso corporal y el consumo de alimento (AWAD *et al.*, 1990) y hay gran cantidad de trabajos, en los que no se han encontrado diferencias en el incremento de peso o en la ingesta de ratones alimentados con distintos suplementos de ácidos grasos en las dietas (HUANG *et al.*, 1991), o de ratas alimentadas con distintas fuentes lipídicas en las dietas. Por ejemplo aceite de coco, de girasol o de pescado (KURATA y PRIVETT, 1980; HAUG y HØSTMARK, 1987; MOHAN *et al.*, 1991); manteca, aceite de maíz y aceite de pescado (GARG *et al.*, 1988; PAN y BERDANIER, 1991; BALTZELL *et al.*, 1991); aceite de oliva o de distintas semillas (LEE *et al.*, 1991; KRITCHEVSKY *et al.*, 1991); aceite de palma, de girasol y de pescado (CHOI *et al.*, 1989; YEO y HOLUB, 1990; HALMINSKI *et al.*, 1991; SHEPPARD y HERZBERG, 1992); aceite de oliva, de maíz mantequilla, manteca o aceite coco (LAI *et al.*, 1991); aceite de girasol y aceite de soja (BOUZIANE *et al.*, 1992); una grasa rica en ácidos grasos saturados, monoinsaturados o poliinsaturados (HÜLSMANN y KORT, 1983; SUGANO *et al.*, 1988; ŽAK *et al.*, 1990); o mezclas de grasas con cantidades crecientes de ácidos grasos $\omega 3$ (SCHRIJVER *et al.*, 1992); distintos aceites vegetales (VAN AMELSVOORT *et al.*, 1988a; KRITCHEVSKY *et al.*, 1990; ZHANG *et al.*, 1990).

La ganancia de peso y el consumo de alimento, de cerdos (OPSTVEDT *et al.*, 1988); o de ratas alimentadas con distintos tipos de aceites vegetales y de grasas hidrogenadas (SUGANO *et al.*, 1983; EMKEN, 1984; EDWARDS-WEBB *et al.*, 1988; HANIS *et al.*, 1989; LEVY *et al.*, 1990); o grasas hidrogenadas suplementadas con ácido linoleico (RØNNEBERG *et al.*, 1987); o con diferentes proporciones crecientes de grasa hidrogenada de maíz, de pescado, de soja y de colza, no presentaron diferencias. Excepto en las que se usó la mayor cantidad de grasa en la dieta, donde se detectó un menor valor de la ingesta de alimento, pero no de la ingesta energética (CHO *et al.*, 1986) o una disminución de ambos (THOMASSEN *et al.*, 1982; WATANABE *et al.*, 1984; NILSSON *et al.*, 1984).

Contrariamente, el uso en la alimentación de ratas, de grasas vegetales hidrogenadas produjo un retardo en el crecimiento (SCHRIJVER y PRIVETT, 1983; GOTTENBOS, 1983; HUANG *et al.*, 1984). Similares resultados se han obtenido con ratones a los que se les suplementó la dieta con diversos isómeros *trans*, aunque las diferencias no fueron significativas. Tampoco se hallaron variaciones en la cantidad de dieta consumida (BEYERS y EMKEN, 1991).

Cuando se comparó el efecto de grasa de coco hidrogenado, una grasa suplementada con ácidos grasos *trans* y aceite de girasol, se observó que el régimen dietético con los ácidos grasos *trans* produjo los menores crecimientos y las menores ingesta, estando en segundo lugar la grasa hidrogenada, pero mostraron ingestas de alimentos mayores, obteniéndose el mayor incremento de peso con el aceite de girasol. Los resultados de la eficacia alimentaria reflejaron estos resultados (KURATA y PRIVETT, 1980). Utilizando grasas de origen marino y de origen vegetal, hidrogenadas, se obtuvieron mayores ingestas de alimentos, sin diferencias en la ganancia de peso (SUGANO *et al.*, 1984); o consumos de dieta mayores, con menores incrementos de peso, cuando se compararon con dietas formuladas con aceite de soja (THOMASSEN *et al.*, 1984) o con aceite de pescado y no cuando se compararon con aceite de maíz (PAN y BERDANIER, 1991); o mayores ganancias de peso (NEAT *et al.*, 1980).

Un tipo de hábito dietético que conduzca a una pobre ingesta de ácidos grasos esenciales, como ha sido observado en ratas con una alimentación crónica de grasas severamente hidrogenadas, produce una supresión de la tasa de crecimiento además de la aparición de otros síntomas de deficiencia en ácidos grasos esenciales, entre los que se destacan fallos en el desarrollo reproductivo, una reducción en la biosíntesis de eicosanoides, aumento voluntario de la ingesta de alimento, descamaciones de la piel, una mayor pérdida de agua a través la piel, fallos en la utilización de energía, un aumento de la susceptibilidad a infecciones y una mayor fragilidad capilar. Además, parece ser que el ácido α -linolénico y sus derivados pueden desempeñar un papel importante en los procesos de aprendizaje. Este régimen dietético puede llegar a acentuar dicha deficiencia (HOLMAN *et al.*, 1983; EMKEN, 1984; SANDERS, 1988; OPSTVEDT *et al.*, 1988; BOURRE *et al.*, 1989; HANIS *et al.*, 1989; VERGROESEN, 1989; KELLY, 1990; LANDS, 1991; SARDESAI, 1992; WAINWRIGHT, 1992; CHAPKIN; 1992). Incluso algunos autores, después de un estudio con niños recién nacidos, sugieren que un alto consumo de ácidos grasos *trans* puede inducir defectos en el metabolismo de los ácidos grasos esenciales y en el crecimiento temprano (KOLETZKO, 1991, 1992). Los síntomas son aliviados cuando se suplementa la dieta con los ácidos grasos esenciales o con fuentes lipídicas que los contengan (SCHRIJVER y PRIVETT, 1982; GOTTENBOS 1983; HUANG *et al.*, 1984; NORUM *et al.*, 1989).

En la rata se ha demostrado que suministrando un 2% de la energía total

consumida como ácido linoleico, se evitan los efectos indeseables de altas ingestas de ácidos grasos *trans* en la dieta (ZEVENBERGEN *et al.*, 1988; WELCH y BORLAKOGLU, 1992).

El ácido linoleico cura todos los síntomas, pero se ha demostrado que el ácido α -linolénico solamente restituye el crecimiento. Los productos biosintéticos del linoleico, el ácido araquidónico y el γ -linolénico, en la rata son más potentes en restaurar los síntomas de esta deficiencia. Los requerimientos de ácidos grasos esenciales en estos animales son mayores en los machos que en las hembras y son del 1% para el linoleico y del 0,5% para el α -linolénico de la ingesta calórica total o lo que es lo mismo 500mg/100g de dieta o 250mg/100g respectivamente (SANDERS, 1988). Otros valores encontrados en la bibliografía son para el ácido linoleico el 2,4% de las calorías totales consumidas o 1200 mg/100g de alimento ingerido y para el ácido α -linolénico 0,26-0,4% o 130-200mg/100g respectivamente (BOURRE *et al.*, 1990, 1993) o 1-2% para el linoleico (LEAT, 1983) o para ambos de 1-3% de la ingesta total calórica (VERGROESEN, 1989) o de 0,2-0,5% para el α -linolénico y 1-2% para el linoleico (SARDESAI, 1992). Una cantidad mínima diaria de 260-390 mg de α -linolénico o de 100-200 mg de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga ω 3 y óptima de 860-990 mg o 350-400 mg respectivamente (GUESNET *et al.*, 1993). Aunque los requerimientos mínimos para el ácido α -linolénico todavía no han sido establecidos (BRUCKNER, 1992). Otros autores sugieren que deben mantenerse, además, una proporción adecuada de linoleico/ α -linolénico en la dieta de 4:1-10:1 (CHAPKIN, 1992); o de ω 6/ ω 3 entre 5:1 y 15:1 (WAINWRIGHT, 1992).

Cambios en la relación grasa/carbohidrato de la dieta no producen variaciones en la ingesta energética, cuando esta relación disminuye por descenso en los hidratos de carbono, parece que se produce un mejor control de la ingesta de energía (VERGROESEN, 1989). Se ha demostrado que un incremento de los triglicéridos plasmáticos, tras una dieta rica en grasa o por haberlos infundido intravenosamente, deprimen la ingesta, contrariamente sustancias que bloquean la oxidación de ácidos grasos la estimulan (FORBES, 1992).

En ratas una dieta alta en grasa o en sacarosa puede causar una obesidad en ausencia de hiperfagia. Además, si el azúcar y la grasa están presentes al mismo tiempo en la dieta, existe un efecto aditivo sobre el contenido de grasa corporal (LEVIN *et al.*, 1985; OSCAI *et al.*, 1987). Aunque en muchas ocasiones, las modificaciones en la densidad energética de la dieta no afectan a

la ingesta calórica, debido a que las ratas normalmente compensan dichas variaciones con ajustes de la ingesta de alimento. En muchos trabajos se ha observado que las dietas con altos contenidos de grasa pueden incrementar la ingesta de alimentos y, a largo plazo, producir obesidad. La hiperfagia producida por este tipo de dietas ha sido asociada, entre otros motivos de tipo metabólico y endocrino, a un aumento de la palatabilidad y de la densidad calórica de las mismas. Más que el alto contenido de grasa en dichas dietas exclusivamente, son las altas cantidades de la grasa, de los carbohidratos y de la energía, lo que interactúa para producir los fenómenos hiperfágicos y la obesidad en los animales alimentados con este tipo de dietas (RAMIREZ y FRIEDMAN, 1990; RAMIREZ, 1990).

Por el contrario, altas cantidades de grasa en la dieta la pueden convertir en poco palatable y además pueden existir aromas no agradables asociados con la misma, que refuerzan esta respuesta adversa (TRAYHURN, 1992). Se ha propuesto que las ratas utilizan los productos de la descomposición de las grasas para detectar la presencia de las mismas en los alimentos (RAMIREZ, 1992).

Las ratas son capaces de aprender la relación que puede existir entre el contenido de energía de los alimentos y su sabor y olor. Una dieta de cafetería podría aportar dificultades a este aprendizaje, debido al retraso existente entre las características sensoriales de la dieta y percibir sus efectos postingestivos (RAMIREZ, 1990). Algunos autores sugieren que, además, poseen una atracción innata por las grasas emulsificadas, debido a sus características orosensitivas, y que desarrollan sus preferencias por los efectos nutritivos y postingestivos producidos por las mismas (SCLAFANI, 1991). Se conoce que fenómenos gástricos están implicados en la regulación de la ingesta, puesto que la infusión de diferentes tipos de grasa en el estómago inhibe la ingesta de acuerdo al contenido calórico de las mismas (RAYNER, 1992).

Algunos autores explican las diferencias en la eficacia alimentaria y de la deposición de grasa corporal de distintos tipos de grasa, debido a que existen evidencias de que, en roedores, las dietas ricas en grasas activan la capacidad y la actividad la termogénesis del tejido adiposo pardo. El tipo de ácido graso afecta de manera diferente al intercambio de energía; la capacidad termogénica de este tejido es estimulada preferentemente por dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados (aceite de maíz o de pescado), mientras que lo hacen en menor medida dietas con altas cantidades de grasa saturada o monoinsaturada

(TRAYHURN, 1992) o cuando se producen diferencias en su utilización (HILL *et al.*, 1993).

2.2.- ALGUNOS ASPECTOS DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA

2.2.1.- ORGANIZACIÓN HISTOLÓGICA Y FUNCIONAL DEL HÍGADO

El hígado está compuesto por células epiteliales dispuestas en placas o láminas interconectadas, de tal forma que constituyen un enrejado tridimensional. Las láminas se encuentran dispuestas radialmente respecto a las ramas terminales de las venas hepáticas, o venas centrales, llamadas así por su localización en el centro de unas unidades prismáticas de parénquima que son los lobulillos hepáticos. A ambos lados de las láminas o placas de hepatocitos, existe un sistema paralelo de canales vasculares, los sinusoides hepáticos. En cada uno de los ángulos del lobulillo hepático se observa un canalículo portal o espacio porta, estructura formada por una pequeña rama de la vena porta y otra de la arteria hepática, así como por un canalículo biliar, lo que se conoce como triada portal, englobada por una envoltura común de tejido conjuntivo (BLOOM y FAWCETT, 1987). Todo el lobulillo puede estar rodeado de una banda relativamente ancha de tejido conjuntivo, como aparece en el cerdo, camello, oso polar y coatí, o no, como sucede en la mayoría de los mamíferos, incluida la rata (JONES y SPRINGMILLS, 1988).

El concepto anterior de organización histológica del hígado, conocido como modelo de **lobulillo hepático clásico** (Fig. 1 A), ha sido aceptado universalmente a partir de las observaciones de Wepfer (1664) y Malpighi (1666). Si bien, el lobulillo clásico se considera primariamente una unidad estructural, ciertos cambios fisiológicos (depósitos de glucógeno y grasa después de una comida) o fisiopatológicos (necrosis) no pueden ser explicados mediante este modelo de organización histológica. Por ello se cuestiona la validez y utilidad de la definición tradicional del lobulillo clásico y, como consecuencia, se han desarrollado otros esquemas para describir las unidades histológicas y funcionales del hígado. Tales esquemas son el modelo de **lobulillo portal**, que apareció a principios de siglo Mall (1906), y el modelo de **acino hepático**, descrito por Rappaport (1960), más funcionales que histológicos, aunque, junto al modelo del lobulillo clásico, representen formas distintas de interpretar aspectos particulares de la estructura y función del hígado.

El modelo de lobulillo portal (Fig. 1 B) se emplea rara vez en la

hepatología moderna. Está constituido por un eje morfológico que es el conducto biliar interlobulillar del área o espacio portal, y está limitado periféricamente por tres venas centrales diferentes. Tiene así una forma triangular o cuneiforme, circulando la sangre a través del mismo desde el centro del lobulillo a la periferia y la bilis en sentido contrario.

Finalmente, según el modelo del acino hepático (Fig. 1 C), descrito como la menor unidad funcional del hígado, el lobulillo está formado por una pequeña masa irregular de tejido parenquimatoso no encapsulado que se encuentra entre dos (o más) venas centrales. Su eje sería una pequeña raíz del conducto portal principal, que contiene una vénula portal terminal, una arteriola hepática, un conductillo biliar, un vaso linfático y nervios. La sangre circula por él, desde el espacio porta a la periferia y el flujo biliar de la periferia al área central (JONES y SPRING-MILLS, 1988).

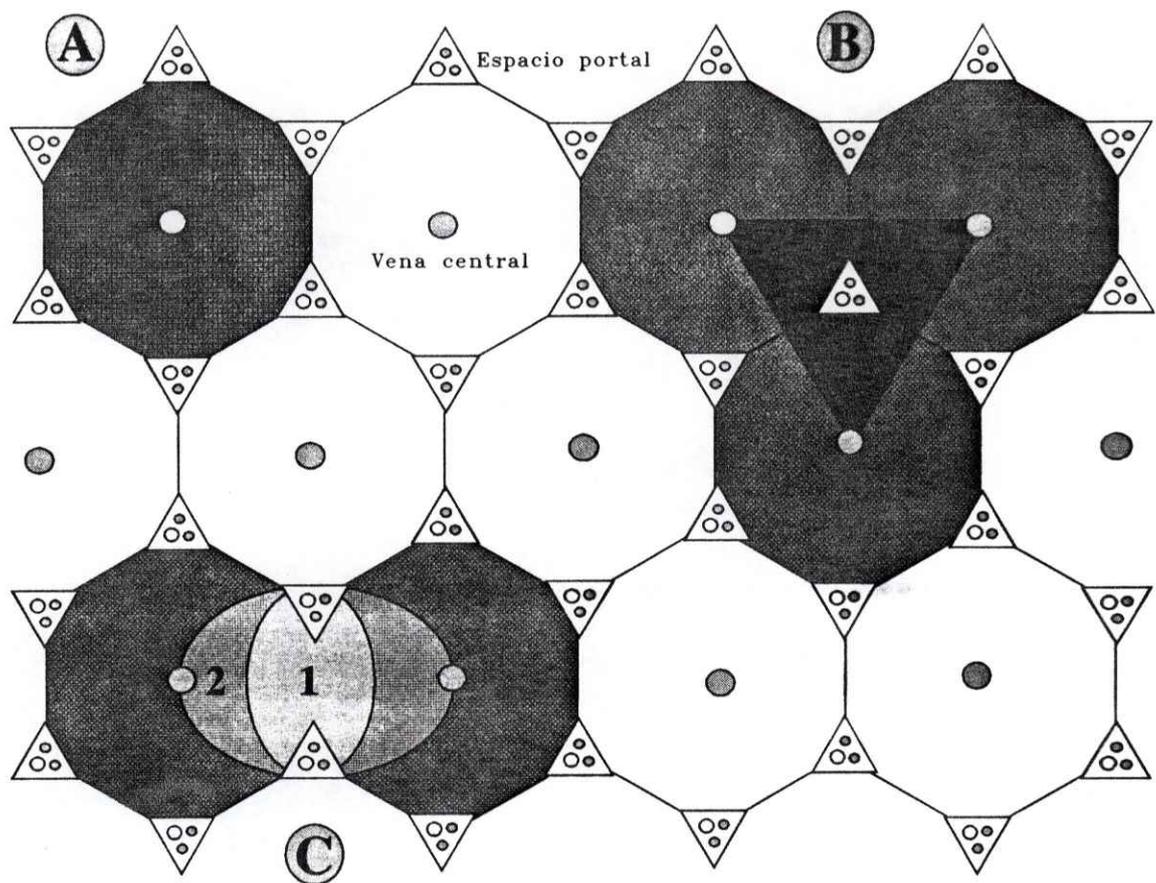


FIGURA 1. Modelos de lobulación hepática: Lobulillo clásico (A). Lobulillo portal (B). Acino hepático (C) (1) Zona periportal. (2) Zona perivenosa.

Acino Hepático

El concepto de acino hepático está basado en el suministro de sangre al parénquima hepático. Siguiendo el flujo sanguíneo a través del acino, se pueden diferenciar, al menos, dos zonas distintas, la zona periportal (aférente o próximal), perfundida por una sangre que oferta altas concentraciones de O_2 , nutrientes y hormonas, y la zona perivenosa, pericentral, centrolobulillar, eferente o distal), que recibe sangre mermada en O_2 , sustratos y hormonas, y enriquecida en CO_2 y otros productos del metabolismo. Debido a esto, los hepatocitos periportales y perivenosos reciben distintas señales reguladoras, humorales y nerviosas (JUNGERMANN, 1986a, 1988, 1989).

La inervación en ambas zonas parece ser diferente. Así, en la rata y el ratón los nervios simpáticos parecen alcanzar solamente las zonas más exteriores de las células periportales (REILLY *et al.*, 1978), pudiendo propagarse entre los hepatocitos el cambio de potencial ocasionado por los impulsos nerviosos a través de uniones GAP (SESEKE *et al.*, 1992). Se sabe que los nervios autónomos que inervan el hígado juegan un importante papel en la regulación a corto plazo del metabolismo y de la hemodinámica del órgano (JUNGERMANN, 1987)

La tensión de oxígeno en sangre periportal proximal es superior al doble de la sangre que existe en la perivenosa distal (JUNGERMANN, 1986). Este gradiente de oxígeno juega un papel importante en el control a corto plazo del metabolismo de carbohidratos hepático (WOLFLE *et al.*, 1983) y en la regulación a largo plazo de los niveles de los enzimas (NAUCK *et al.*, 1981; WOLFLE y JUNGERMANN, 1986b; BASTIAN y JUNGERMANN, 1987).

Durante el paso de sangre a través del hígado, la concentración de diferentes hormonas y mediadores varía de forma distinta, la concentración de insulina, glucagón y adrenalina disminuye por degradación, mientras que la de triiodotironina y adenosina aumenta por formación (JUNGERMANN 1988).

Existen evidencias que indican que los gradientes de oxígeno (NAUCK *et al.*, 1981; BASTIAN Y JUNGERMAN 1987), ciertas hormonas (ANDERSEN *et al.*, 1982; GIRARD *et al.*, 1991) y la inervación podrían estar involucrados en la expresión genética de los hepatocitos y por tanto de la inducción de la zonación de sus enzimas. Los mecanismos de la expresión zonal de enzimas son muy complejos. Los gradientes de oxígeno y de la relación glucagón/insulina parecen ser importantes en la zonación de los enzimas implicados en el metabolismo de los carbohidratos, mientras que las interacciones entre las células y la matriz

intercelular parecen serlo para el metabolismo del amoníaco (JUNGERMANN, 1992).

También se ha observado que en las células de Kupffer existen dos poblaciones funcionalmente diferentes, según estén localizadas en el hígado. Las situadas alrededor de la región portal se encuentran en mayor número, son más activas y de mayor tamaño que las que se localizan rodeando a la zona privenosa (ROMERT *et al.*, 1993).

Histológicamente, las células del parénquima hepático tienen apariencia bastante uniforme que contrasta fuertemente con las múltiples funciones del órgano. Histoquímicamente manifiestan diferencias (JUNGERMANN, 1986). Así, estudios histoquímicos y morfométricos han revelado que los hepatocitos de la zona periportal y los de la zona perivenosa del parénquima, difieren en su contenido de enzimas (Figura 2), encontrándose diferencias zonales en las características y número de las mitocondrias, retículo endoplasmático liso (JUNGERMANN, 1989), aparato de Golgi, canalículos biliares (PALACIN-PRIETO, 1991; JUNGERMANN, 1992) y otras estructuras subcelulares (NOVIKOFF, 1959; RAPPAPORT, 1960; LOUD, 1968) y, por tanto, en sus capacidades metabólicas (JUNGERMANN, 1988).

De esta forma, basándose en el hecho de que las actividades y/o los contenidos de los enzimas claves son indicadores de las capacidades metabólicas, y de la heterogeneidad de estructuras subcelulares, se propusieron diferentes funciones para las dos zonas principales del parénquima hepático, primero para el metabolismo de los carbohidratos (KATZ y JUNGERMANN, 1976) y más tarde para otros muchos procesos del metabolismo del hígado (JUNGERMANN y SASSE, 1978; JUNGERMANN y KATZ, 1982; 1986; HAUSSINGER, 1986; JUNGERMANN 1986; THURMAN y KAUFFMAN, 1986; JUNGERMANN y KATZ, 1989), lo que llevó a proponer lo que se ha denominado "**Modelo de zonación metabólica del parénquima hepático**" (Tabla 1) (KATZ Y JUNGERMANN, 1976; KATZ *et al.*, 1977) revisado recientemente (JUNGERMANN Y KATZ, 1989; JUNGERMANN, 1992).

TABLA 1. Modelo de zonación metabólica del parénquima hepático.

ZONA PERIportal		ZONA PERIVENOSA	
PROXIMAL	DISTAL	PROXIMAL	DISTAL
Metabolismo Oxidativo			
Oxidación de ácidos grasos			
Ciclo de Krebs			
Cadena respiratoria			
Liberación de glucosa		Captación de glucosa	
Gluconeogénesis		Glucolisis	
Síntesis de glucógeno desde piruvato		Síntesis de glucógeno a partir de glucosa	
Degradación de glucógeno a glucosa		Glucogenolisis hasta piruvato	
Utilización de aminoácidos		Lipogénesis	
Conversión de aminoácidos a glucosa			
Degradación de aminoácidos			
Formación de urea desde N_2 aminoacídico			
		Destoxificación de amonio	
Formación de urea desde NH_3		Síntesis de glutamina desde NH_3	
Utilización de glutamina			
Síntesis de colesterol		Cetogénesis	
		Metabolismo xenobiótico	
Metabolismo protector		Monooxigenación	
Peroxidación de glutation		Glucuronización	
Conjugación de glutation		Síntesis de ácido mercaptúrico	
Síntesis biliar			
Excreción de ácido cólico			
Excreción de bilirrubina			

La heterogeneidad zonal de enzimas es dinámica y funcional más que estática y estructural, y parece ser un prerrequisito para una función hepática normal cuando actúa como un glucostato. La zonación enzimática en roedores adultos se altera y se adapta después de grandes y constantes cambios, como ayuno (GUDER y SCHMIDT, 1976; KATZ *et al.*, 1977; 1977; SCHMIDT *et al.*, 1978; TEUSCH, 1978; ANDERSEN *et al.*, 1982; FISCHER *et al.*, 1982; KATZ

et al., 1983; 1983; ZIERZ *et al.*, 1983), diabetes (MIETHKE *et al.*, 1985), hepatectomía parcial (ANDERSEN *et al.*, 1984; CHATZIPANAGIOTOU *et al.*, 1985), cirrosis (NUBER *et al.*, 1980), daño tóxico zonal o anastomosis portacaval (WITTIG *et al.*, 1985).

Además, la heterogeneidad de los hepatocitos no es una propiedad típica del parénquima hepático *per se*. En la rata esta zonación de funciones se desarrolla gradualmente durante la segunda semana de vida después del destete, es decir, después del cambio de nutrición rica en proteína y grasa, vía leche materna, a la nutrición rica en carbohidratos (GIRARD *et al.*, 1991), vía alimentación normal, cuando el hígado adquiere la función de glucostato (KATZ *et al.*, 1976; ANDERSEN *et al.*, 1983; JUNGGERMANN, 1986, 1987). Previamente a este cambio, en el hígado prenatal hay una ausencia de enzimas gluconeogénicos y no se encuentra ninguna zonación en los enzimas de la glucólisis (BITTNER *et al.*, 1979; JUNGGERMANN, 1986). Esto mismo sucede con los enzimas clave de la síntesis de glutamina y urea, donde la zonación se produce desde unos días anteriores al parto a la segunda semana de vida en la rata (JUNGGERMANN 1989).

Los enzimas clave de la lipogénesis y su zonación también se inducen con el crecimiento, prevaleciendo la mayor actividad, tanto para los enzimas que generan poder reductor, como para los propiamente lipogénicos (JUNGGERMANN, 1986b), en la zona perivenosa en ratas jóvenes y en hembras adultas, no siendo así en las ratas macho adultas (KAZT *et al.*, 1983). En ratas macho, la heterogeneidad zonal de algunos enzimas lipogénicos se pierde con la pubertad probablemente por el cambio en la relación estrógeno/testosterona (JUNGGERMANN, 1989).

Las células perivenosas tienen mayor capacidad para liponeogénesis, síntesis *de novo* de ácidos grasos a partir de glucosa o etanol, y también mayor actividad de enzimas glicolíticos (JUNGGERMANN, 1988). Las ratas hembras poseen mayores actividades de los enzimas lipogénicos que los machos, pareciendo estar mejor preparadas para la síntesis *de novo* de grasa. Sin embargo, no está claro el significado funcional de las diferencias sexo-específicas de la actividad y zonación de algunas enzimas lipogénicas (JUNGGERMANN, 1989).

La síntesis de colesterol parece producirse predominantemente en el área periportal, debido a que la hidroximetilglutaril-CoA reductasa extramitocondrial, un enzima clave en la síntesis de colesterol, se encuentra localizada en una

pequeña población de hepatocitos periportales que representan aproximadamente un 20% del total de los hepatocitos, que es también el lugar preferido para la formación de la bilis (JUNGERMANN, 1992).

La capacidad para la secreción de VLDL, derivada del exceso de carbohidratos, se cree que puede ser también mayor en las células perivenosas, pero no ha sido demostrada todavía su existencia. Las capacidades zonales para el procesamiento de remanentes de quilomicrones no se conocen todavía (JUNGERMANN, 1989).

La ruptura inicial de ácidos grasos y de aminoácidos a acetil-CoA y la oxidación final del acetil-CoA a CO₂, la cual es dependiente de oxígeno, está preferentemente localizada en las células periportales, "más aerobias", que contienen el mayor volumen mitocondrial (mitocondrias periportales, 0,56 μm³ y las perivenosas, 0,41μm³) (PALACIN-PRIETO, 1991) y la mayor actividad de enzimas reguladoras del ciclo de Krebs y de la cadena respiratoria (JUNGERMANN, 1986). En contraste, la cetogénesis parece ser prevalente en la zona perivenosa (JUNGERMANN, 1988).

En la rata, al final del periodo absortivo, el glucógeno aparece en todos los hepatocitos con una ligera predominancia en los periportales. Durante el periodo postabsortivo, el glucógeno parece ser degradado a mayor velocidad en la zona periportal, así que, al final de este periodo, queda más glucógeno en la zona perivenosa. Posteriormente, los almacenes de glucógeno son repuestos comenzando desde la zona perivenosa a la zona periportal, resultando una mayor recuperación de las reservas de glucógeno en la zona periportal (BABCOCK Y CARDEL, 1974; KATZ *et al.*, 1986). En estos estudios no se conoce si el glucógeno es formado a partir de glucosa directamente o de una forma indirecta, a partir de precursores de tres átomos de carbono.

Los hepatocitos de la zona perivenosa poseen mayor capacidad de degradar la glucosa a piruvato (Fig. 2). La glucolisis forma parte de la conversión de glucosa a ácidos grasos por lo que, funcionalmente, está unida a la lipogénesis, cuya capacidad es mayor en la zona perivenosa. Las células periportales tienen una mayor capacidad para formar glucosa a partir de sustratos de tres átomos de carbono. Como se puede observar en la figura 2, poseen mayores actividades de los enzimas clave de esta ruta.

Generalmente, la población proximal a los vasos aferentes (zona periportal) contiene grandes cantidades de enzimas gluconeogénicos, mientras que aquellas

áreas adyacentes a los vasos eferentes (zona perivenosa) contiene mayor cantidad de enzimas lipogénicos y glucolíticos (CHEN y KATZ, 1988).

Atendiendo a consideraciones termodinámicas, la gluconeogénesis es un proceso endoergónico ($\Delta G'_0 = 47,2$ Kcal/mol glucosa) y debe estar acoplada al metabolismo oxidativo en las zonas periportales, más aeróbicas, y la unión de la glucolisis más la lipogénesis, que es un proceso exoergónico ($\Delta G'_0 = -71,1$ Kcal/mol glucosa) (DECKER *et al.*, 1970) puede esperarse que sea independiente del metabolismo oxidativo y que se sitúe en las zonas menos aerobias, las perivenosas (JUNGERMANN y SASSE, 1978).

Hallazgos recientes prueban que el glucógeno hepático se forma primariamente a partir de precursores de tres átomos de carbono vía glucolisis y resíntesis vía gluconeogénesis, lo que se ha denominado "paradoja de la glucosa" (KATZ *et al.*, 1986) y se ha propuesto al lactato como el principal precursor intermedio en la síntesis de glucógeno hepático.

De acuerdo con el modelo de zonación metabólica, la glucosa de la dieta es absorbida durante la fase absorptiva por los hepatocitos perivenosos, convertida en parte directamente a glucógeno, y una mayor parte es degradada a lactato vía glucolisis. El lactato es liberado y transportado por la circulación general a los hepatocitos periportales, donde es absorbido y convertido a glucógeno vía gluconeogénesis y glucogenosíntesis.

Durante la fase postabsortiva en los hepatocitos perivenosos, el glucógeno es degradado vía glucolisis a lactato, mientras que en las células periportales el glucógeno es convertido a glucosa y el lactato y otros precursores de tres carbonos, convertidos a glucosa vía gluconeogénesis, la cual es liberada al torrente sanguíneo (JUNGERMANN, 1987).

Por lo tanto, la glucolisis (células perivenosas) y la gluconeogénesis (células periportales) pueden estar activas simultáneamente como predice el modelo de zonación metabólica (KATZ y JUNGERMANN, 1976).

En conclusión, la zona periportal siempre libera glucosa: pequeñas cantidades durante la alimentación y grandes cantidades durante el ayuno; inversamente, la zona perivenosa siempre toma glucosa: grandes cantidades durante la alimentación y pequeñas cantidades durante el ayuno (JUNGERMANN, 1988).

La síntesis de proteínas del plasma y su secreción parece ser realizada normalmente por todos los hepatocitos, aunque puede existir bajo ciertas

condiciones la heterogeneidad zonal en la síntesis proteica, por ejemplo, después del ayuno, en el que las células perivenosas son más activas sintetizando albúmina (GUILLOUZO *et al.*, 1982; LeBOUTON, 1982).

El hígado es uno de los principales lugares donde se realiza la gluconeogénesis, a partir de aminoácidos. Durante el catabolismo de éstos se forma amoníaco, que debe ser excretado mediante su conversión a urea, que es posterior a la síntesis e hidrólisis de la glutamina como pasos intermedios.

Se ha comprobado que los enzimas clave para la formación de urea se encuentran localizados en mayor cantidad en la zona periportal y en la zona proximal perivenosa de los hepatocitos, mientras que, inmunocitoquímicamente, se ha observado, que los enzimas para la síntesis de la glutamina se hallan distribuidos en la zona distal perivenosa, en dos o tres bandas de hepatocitos rodeando a la vena central. Parece que la separación espacial es un requisito previo para la excreción del amoníaco en el adulto (JUNGERMANN, 1986).

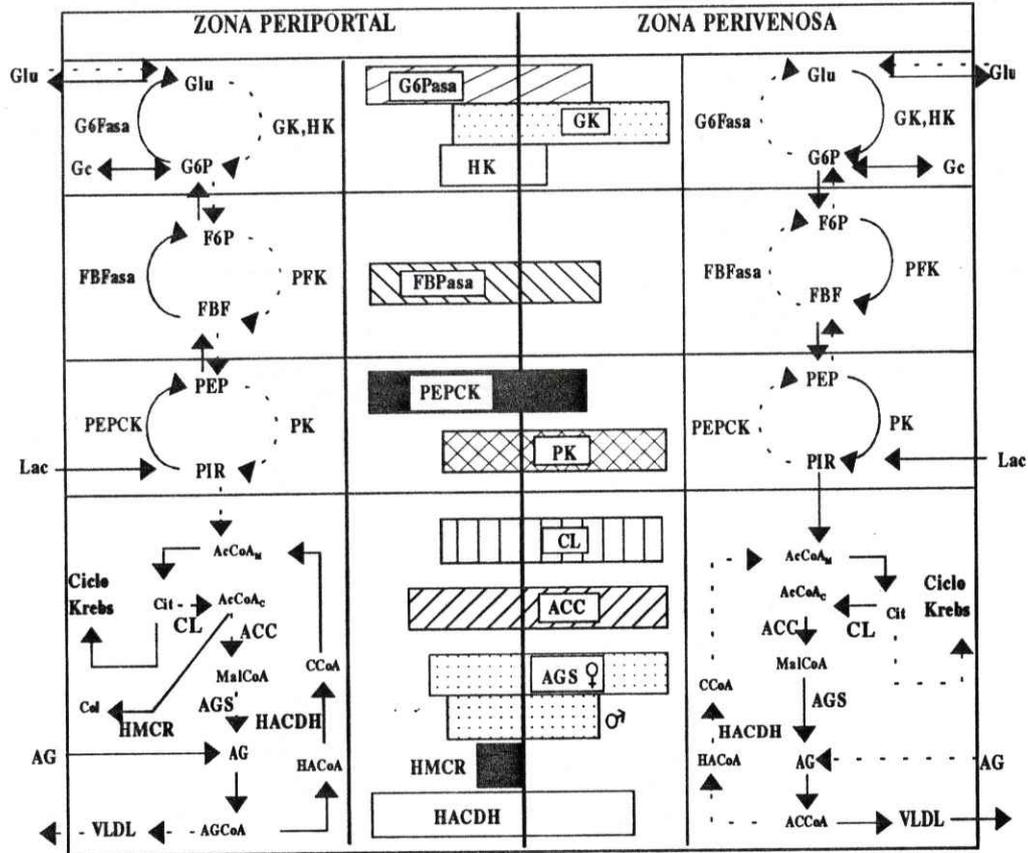
Diversos estudios con distintas técnicas de perfusión, cultivos celulares, poblaciones de hepatocitos enriquecidos en células periportales o perivenosas aportan más evidencias del actual esquema de zonación metabólica del hígado en la rata (JUNGERMANN, 1989).

En resumen, el modelo de zonación metabólica propone que :

a) Los hepatocitos periportales catalizan predominantemente el metabolismo energético oxidativo con β -oxidación y catabolismo de aminoácidos, así como ureagénesis, gluconeogénesis para síntesis de glucógeno y liberación de glucosa, formación de bilis con síntesis de colesterol y metabolismo protector.

b) Los hepatocitos perivenosos median preferentemente en la absorción de glucosa para síntesis de glucógeno, glucolisis y liponeogénesis, así como en la cetogénesis, formación de glutamina y metabolismo xenobiótico (JUNGERMANN, 1988, 1989, 1992).

(FIGURA 2). Distribución de los enzimas clave del metabolismo de los glúcidos y de los lípidos, en el parénquima hepático.



Gc, glucógeno; Glu, glucosa; G6P, Glucosa 6-fosfato; G6Fasa, glucosa-6-fosfatasa; GK, glucoquinasa; HK, hexoquinasa; F6P, fructosa 6-fosfato; FBFasa, Fructosa-1,6-bisfosfatasa; FBF, fructosa 1,6-bisfosfato; PFK, fosfofructoquinasa; PEP, fosfoenolpiruvato; PIR, piruvato; PEPCK; fosfoenolpiruvato carboxiquinasa; PK, piruvatoquinasa; lac, Lactato; AcCoA_m, acetil-CoA mitocondrial; AcCoA_c, acetil-CoA citosólico; Cit, citrato; CL, Citrato liasa dependiente de ATP; ACC, acetil-CoA carboxilasa; MalCoA, malonil-CoA; AGS, ácido graso sintetasa; AG, ácido graso; AGCoA; acil-CoA; HAcCoA, β-hidroxiacil-CoA; HADHD, β-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa; CC, β-cetoacil-Coa; Col, colesterol; HMCR, hidroximetilglutaril-CoA reductasa.

2.2.2.- PRUEBAS DE INTEGRIDAD HEPÁTICA

El hepatocito es un tipo celular dotado, como consecuencia de su gran actividad metabólica, de un rico aparato enzimático, de ahí la gran frecuencia con que, en las hepatopatías se puede hallar alterado el contenido de muy diversos enzimas y, de ahí también, el interés diagnóstico que puede tener el estudio de los mismos. La elevación de los enzimas séricos en las hepatopatías puede obedecer a dos mecanismos fundamentales:

1) Destrucción o aumento de la permeabilidad celular.

2) Colestasis. En la que los enzimas aumentan en relación con la patología de las vías biliares, tanto intra como extrahepáticas (BUENO *et al.*, 1982).

Las pruebas biológicas más utilizadas en el diagnóstico de las hepatopatías para una exploración funcional del hígado, se pueden clasificar según la función hepática afectada (PASTOR y LASO, 1983) y así, las usadas en este estudio se agrupan en:

a) Pruebas de función hepatocelular

Enzimas séricas

- Aspartato aminotransferasa (GOT o ASAT)

- Alanina aminotransferasa (GPT o ALAT)

Proteínas plasmáticas totales

b) Exploración de la función biliar

Enzimas séricas

- Fosfatasa alcalina (PAL)

- γ -glutamiltanspeptidasa

Algunas enzimas que se encuentran en el citoplasma de las células, llegan al plasma cuando éstas se dañan ligeramente. Las enzimas que únicamente se encuentran en las mitocondrias penetran en el suero como resultado de una afectación suficiente de estos orgánulos. Sin embargo, el aumento de la cantidad de enzima liberada a la circulación puede producirse incluso sin una aparente necrosis hística, ya que un aumento de la fuente hística de enzimas por un incremento en la producción celular, o por un aumento del número de células, también puede ser el responsable de unos niveles séricos elevados

(ZIMMERMAN y HENRY, 1979).

En ausencia de isquemia en tejidos como el miocardio o el músculo esquelético, los niveles elevados en el suero sugieren lesión en las células hepáticas. Son indicadores sensibles del daño hepático, y se encuentran elevadas en el plasma en todos los procesos que cursan con alteración hepática. La ALAT se encuentra en el citosol y la ASAT en el citosol y las mitocondrias (LEAL *et al.*, 1989).

En muchos estudios, todos los modelos de daño hepático han demostrado que la elevación y la duración de la actividad enzimática ASAT y ALAT en el plasma, son paralelas a la extensión de la lesión del parénquima hepático, necrosis o permeabilidad celular alterada (PODOLSKI y ISSELBACHER, 1986; HOLEČEK *et al.*, 1986; NAGAI *et al.*, 1988; LÖSCHER *et al.*, 1992), pero no se pueden hacer correlaciones cuantitativas precisas en muchas hepatopatías (GALAMBOS y WILLS, 1979; PODOLSKY y ISSELBACHER, 1986); por tanto, se cree que los cambios enzimáticos solamente podrían servir como un índice específico para detectar el daño hepático tempranamente (ABRASHEV *et al.*, 1987). En la rata se emplean extensamente ambas actividades enzimáticas en el plasma, para detectar daños hepáticos (BOLANT *et al.*, 1990). Su elevación es debida a lesión o destrucción celular, con el consiguiente escape hacia la circulación sistémica. La ALAT es bastante específica de lesión del hepatocito, siendo la que más aumenta en la lesión hepática aunque sea leve y reversible; la ASAT se encuentra también en otros tejidos, de ahí que la elevación aislada de esta última deba interpretarse con ciertas precauciones. Un aumento en la ASAT habla más a favor de necrosis y tiene un cierto valor de pronóstico (MIÑO y LOPEZ, 1985). Algunos autores indican que el cambio analítico de mayor sensibilidad es el aumento de la ALAT (MORENO, 1993).

En el hígado de ratas alimentadas con dieta rica en proteína o tras la administración de glucagón, y durante el ayuno, se observó la inducción de ASAT citosólica cuando el metabolismo de glucosa tendió hacia gluconeogénesis. La función fisiológica de la inducción de ASAT citosólica, será la de incrementar el suplemento de oxalacetato como un sustrato de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa citosólica para gluconeogénesis. Sin embargo, la actividad de ASAT mitocondrial no aumentó (HORIO *et al.*, 1988). En ratas alimentadas con cantidades crecientes de aceite de pescado tampoco se observaron cambios en ambas transaminasas, indicando que la función hepática era normal (BOURRE *et*

al., 1990).

En la esteatosis hepática se observaron valores normales o leve aumento de transaminasas y de PAL (PODOLSKY y ISSELBACHER, 1986), sin embargo, cuando los factores causales de la esteatosis fueron obesidad, alcoholismo, diabetes mellitus y hepatitis, se observaron valores patológicos de ALAT y ASAT (MONCADA *et al.*, 1987; HIRANO *et al.*, 1992), observándose que los niveles de ALAT, fueron significativamente mayores en hepatitis alcohólica que en esteatohepatitis no alcohólica (ITOH *et al.*, 1987), al igual que los de la γ -glutamyltranspeptidasa y la fosfatasa alcalina (DE LA MORENA y GONZALEZ, 1989). Aunque en ratones y en ratas con una esteatosis no alcohólica se han detectado valores significativamente elevados de ALAT (NISHINA *et al.*, 1990; BOGIN *et al.*, 1986) y de la ASAT (NEY *et al.*, 1993).

Por otra parte, la ingestión por hombres sanos y durante seis días de una dieta convencional, ligeramente hipercalórica y enriquecida en sacarosa incrementó los niveles de transaminasas (PORIKOS y VAN ITALLIE, 1983). En otros experimentos, con hiperalimentación enteral de carbohidratos en humanos, se han observado incrementos en ASAT, PAL y bilirrubina en el suero (TULIKOURA y HUIKURI, 1982), o bien un incremento moderado de ASAT y ALAT como inicial y única alteración, y se presentaron, bien a los dos días (VAN DOORMAAL *et al.*, 1987) o bien a los tres, después de la iniciación de dicha alimentación (GRANT *et al.*, 1977). Estos daños podrían explicarse por el desarrollo de daño estructural del hepatocito, por deposición aumentada de glucógeno y/o acumulación de lípidos (VAN DOORMAAL *et al.*, 1987).

Aunque el nivel sérico de estas enzimas constituye un buen índice de la extensión del daño celular, no existe una correlación absoluta entre la actividad enzimática y el grado de la lesión histológica; así en enfermedades infiltrativas puede coexistir una grave lesión histológica con normalidad enzimática, debido a que las hepatopatías secundarias en la mayoría de los casos son asintomáticas o paucisintomáticas (PASTOR y LASO, 1983; MORENO, 1993), aunque puede suceder lo contrario, que se encuentren pruebas de función anómalas en ausencia de lesiones histopatológicas (BOLANT *et al.*, 1990).

Otros autores utilizan, además de los enzimas citados, la glutámico deshidrogenasa, (GLDH), y ornitil carbamiltransferasa, considerando la relación GLDH/ALAT del suero como reflejo de factores morfológicos, tales como citolisis, daño mitocondrial y daño central del lóbulo en el hígado (MIKAMI,

1986). En otros estudios se comparan la sensibilidad de varios enzimas séricos en la detección de daño hepático en la rata, encontrando que la sorbitol deshidrogenasa sérica era un indicador muy sensible, al igual que la isocitrato deshidrogenasa (BOLANT *et al.*, 1989, 1990).

Hay una gran variedad de test de laboratorio disponibles para determinar daño y empeoramiento funcional del hígado, aunque la efectividad de estos tests varía dependiendo del tipo de daño y de las especies animales (ANIMAL CLINICAL CHEMISTRY ASSOCIATION, 1988). Por ejemplo, el órgano con mayor contenido en alanina aminotransferasa en la rata fue el hígado, pero en el tití, este enzima se encontró en cantidad mayor en corazón y músculo. En becerros, aún con el mínimo daño severo del hígado, hubo un considerable aumento de ASAT y ALAT, entre otros (ABRASHEV *et al.*, 1987).

Otros autores también observaron, en plasma de ratón, cambios estacionales y circadianos en el contenido de ASAT y ALAT, observándose que la ASAT máxima de primavera era 3,7 veces mayor que la mínima de otoño y que la ALAT máxima de invierno era 2,9 veces mayor que la mínima de otoño (BEREZKIN *et al.*, 1987). En humanos se han observado ritmos circadianos para diversos enzimas plasmáticos, entre los que se encuentran la aspartato aminotransferasa, la γ -glutamyltranspeptidasa, la alanina aminotransferasa y la fosfatasa alcalina, hallándose para todas ellas la misma evolución temporal a lo largo del ciclo diario (RIVERA-COLL, 1993). Además se pueden encontrar variaciones intersexuales significativas en rata para la fosfatasa alcalina o no presentarse como en el caso de ambas transaminasas (BOLANT *et al.*, 1990). Estas diferencias pueden ser de importancia cuando las actividades enzimáticas del plasma se miden como reflejo de la lesión tisular (DAVY *et al.*, 1988).

Por otra parte, valores elevados de ASAT y ALAT, pero elevaciones relativamente pequeñas de PAL, se han observado en la hepatitis aguda y otras enfermedades necrótico-inflamatorias del hígado; mientras que los valores bajos de transaminasas y elevados de PAL, son característicos de la ictericia obstructiva (ZIMMERMAN, 1979).

La fosfatasa alcalina es un enzima producido por muchos tejidos, en especial el hueso, el intestino, la placenta y el hígado, siendo excretado en la bilis. En ausencia de enfermedad de hueso y de embarazo, un nivel elevado de PAL en el suero es indicativo de una función hepática excretora deteriorada (PODOLSKY y ISSELBACHER, 1986). La PAL se localiza, en el hígado

humano, en las células endoteliales de alrededor de las venas central y portal, y en los sinusoides, así como en el canalículo biliar. Por tanto, en las enfermedades hepatobiliares hay un aumento en la liberación del enzima hepático a la corriente sanguínea debido, al parecer, a un aumento de la síntesis enzimática (ZIMMERMAN, 1979; PODOLSKY y ISSELBACHER, 1986; MEYER-SABELLEK *et al.*, 1988).

Aumentos ligeros o moderados de la fosfatasa alcalina y elevaciones transitorias se dan en casi todos los tipos de hepatopatías. Ante un aumento de la fosfatasa alcalina, su origen biliar puede reconocerse mediante la determinación de sus isoenzimas, o más simplemente, por la determinación simultánea de otros enzimas como la γ -glutamyltranspeptidasa y/o 5-nucleotidasa (PASTOR y LASO, 1983) o por su estabilidad con la temperatura; la fosfatasa alcalina hepática es termoestable, mientras que la enzima ósea es termolábil (PODOLSKY y ISSELBACHER, 1986). Unos valores elevados del enzima, cuando éste es de origen hepático, indican una colestasis, aunque no permiten diferenciar si la causa es intra o extrahepática, representa un buen indicador de la obstrucción de las vías biliares (BUENO *et al.*, 1982; ISSELBACHER y LA MONT, 1986). También se pueden encontrar valores elevados en menor grado en otras hepatopatías, por ejemplo, en los procesos infiltrativos hepáticos, incluso en estos mismos en ocasiones, se pueden observar elevaciones aisladas del enzima o valores altos en relación con las transaminasas (LEAL *et al.*, 1989).

La actividad PAL en suero de ratas es mayor que en otros mamíferos y parece ser influida significativamente por los factores dietarios (McCOMB *et al.*, 1979; BOLANT *et al.*, 1990). Así, una ingesta rica en carbohidratos puede incrementar la actividad PAL del suero (WUARIN-BIERMAN y WECKER, 1988). Otros autores observan variaciones de la concentración del enzima en el plasma con diferentes tipos de glúcidos (BATTLES *et al.*, 1991) y lípidos (BOURRE *et al.*, 1990) en la dieta, pero manteniéndose los valores dentro de un rango normal; o cuando se ha provocado una esteatosis (BOGIN *et al.*, 1986).

La γ -glutamyltranspeptidasa está presente en las membranas celulares de las células hepáticas, renales, del bazo, del páncreas, del cerebro y de las vesículas seminales. La elevación de este enzima se encuentra preferentemente en enfermedades hepáticas y aumenta en los mismos procesos de afectación de las patologías obstructivas que la fosfatasa alcalina (LEAL *et al.*, 1989). Es un enzima muy sensible para la detección de lesiones hepatocelulares mínimas de

lesiones infiltrativas (ISSELBACHER y LA MONT, 1986) y ayuda a diferenciar el posible origen de la fosfatasa alcalina.

En trabajos sobre daño hepático con diversos modelos animales, se han obtenido, en la rata, distintos resultados: un aumento de la actividad enzimática en el hígado y una disminución de los valores del enzima en el plasma (BOGIN *et al.*, 1986), ninguna variación (DOOLITTLE *et al.*, 1987) o incremento de la actividad enzimática en el hígado, siendo los valores del enzima en el plasma muy bajos o indetectables, dependiendo de fenotipo de la rata (KARSENTY *et al.*, 1985), o incrementos en la actividad enzimática mínimos y no significativos en el suero de los animales (LÖSCHER *et al.*, 1992).

La gran mayoría de las proteínas plasmáticas son sintetizadas exclusivamente en las células hepáticas. Dado que la cuantificación de las proteínas totales en sangre es reflejo de la biosíntesis hepática, de la ingesta proteica y del catabolismo proteico (LEAL *et al.*, 1989), la lesión y el grado en que ésta se da, conducen a una disminución de los niveles sanguíneos de estas proteínas (PASTOR y LASO, 1983; ISSELBACHER y LA MONT, 1986). Se ha observado una disminución de la síntesis proteica hepática en ratas, a las que se les ha producido una lesión infiltrativa en el hígado (GAZZANIGA, 1975) o no se han detectado cambios cuando se ha medido la albúmina plasmática (BOGIN *et al.*, 1986) o se ha observado una disminución (NEY *et al.*, 1993). La determinación de las proteínas totales además, libera de la realización de otras pruebas diagnóstico de mayor complejidad, como las de labilidad sérica (ANDREU *et al.*, 1983).

Los valores normales de estos parámetros, en plasma de rata de 9-11 semanas de edad, son los siguientes: para machos, ASAT, 37-92 mU/ml; ALAT, 8-44 mU/ml; PAL, 125-300 mU/ml (CHARLES RIVER LAB., 1982), ASAT, $64,4 \pm 32,7$, ALAT, $18 \pm 9,3$; PAL, 142-298 mU/L (BATTLES *et al.*, 1991), ASAT 125 ± 18 mU/ml, ALAT 38 ± 4 mU/ml, PAL 137 ± 16 mU/ml, proteínas totales 73 g/l (IFFA CREDO, 1984) y para hembras, ASAT, 45-89 mU/ml; ALAT, 10-40 mU/ml; PAL, 79-233 mU/ml (CHARLES RIVER LAB., 1982), ASAT 142 ± 55 mU/ml, ALAT 44 ± 13 mU/ml, PAL 76 ± 30 mU/ml, proteínas totales 74 g/l (IFFA CREDO, 1984). Sin embargo, para otros autores, los valores normales son: ASAT, 30 ± 20 mU/ml; 50.9 mU/ml; ALAT, 7 ± 4 mU/ml; 8.1 mU/ml; PAL, 82.7 mU/ml (ZIMMERMAN *et al.*, 1965; AVIDAR *et al.*, 1986), proteínas totales 6-7,8 g/dl (BOLANT *et al.*, 1989, 1990) 5,19-5,38 g/dl

(BATTLES *et al.*, 1991) 54 ± 2 g/l (YOUNG *et al.*, 1993).

Aunque, entre los criterios más empleados en la determinación del efecto hepatotóxico se encuentran la reducción de ritmo del incremento del peso corporal, detección de anomalías macro y microscópicas en los órganos, cambios de peso en estos órganos y las numerosas pruebas de la función hepática, la histopatología es la prueba más sensible en la detección de lesiones hepáticas a largo plazo (BOLANT *et al.*, 1989). Por lo que en el diagnóstico de los procesos infiltrativos del hígado son muy utilizados los análisis histológicos, que ayudan a confirmar las posibles alteraciones detectadas con las pruebas bioquímicas o, como en ciertos casos, evidencian una alteración cuando se trata de una hepatopatía bioquímica y clínicamente muda o silente (KNAPP *et al.*, 1987).

Los signos histológicos están bien definidos: el crecimiento ligero y moderado del órgano es debido, posiblemente, a la infiltración difusa de las células hepáticas por grasa neutra (ISSELBACHER y La MONT, 1986). En la esteatosis producida por consumo de altas dosis de alcohol, la grasa se acumula preferentemente en la zona centrilobulillar del acino de Rappaport y cuando su severidad morfológica es mayor su distribución es más difusa (HERRERIAS, 1983). En la esteatosis secundaria a la obesidad el grado de infiltración grasa es variable y su distribución dentro del lobulillo hepático suele ser difusa aunque con una mayor intensidad en la región centrolobulillar (MORENO, 1993), pero en las esteatosis producidas por agentes tóxicos de diversa índole, se ha descrito una localización periportal o perilobulillar de los acúmulos de grasa (ISSELBACHER y La MONT, 1986).

La grasa se encuentra en el hepatocito en forma macrovesicular, constituyendo una gran vacuola lipídica que desplaza al núcleo celular y al resto de material citoplasmático hacia la periferia, lo que da a la célula un aspecto en anillo de sello característico. Y muy rara vez, formando microvesículas, que todavía no se han fusionado, en torno al núcleo o en un polo de la célula (ALIAGA y PRIETO, 1985), se observa una disminución del núcleo del hepatocito y un aumento en la relación citoplasma/núcleo (CONDE-MARTEL *et al.*, 1993).

No existe alteración de la arquitectura hepática. La reacción inflamatoria, en caso de haberla, es mínima (JARAMILLO, 1985) y producida por la rotura de los hepatocitos, liberándose el contenido lipídico; constituyéndose en algunos casos lipogranulomas, que se localizan principalmente alrededor de las venas

centrolobulillares (LEAL *et al.*, 1989).

Si el proceso infiltrativo no es transitorio y progresa, se hace persistente y extenso; se ve acompañado de procesos degenerativos y necrosis, fibrosis perivenular y pericelular, colagenización sinusoidal, infiltración polimorfonuclear y vacuolización nuclear (ITOH *et al.*, 1987; DE LA MORENA y GONZALEZ 1989; SALMOSON *et al.*, 1993; MORENO, 1993).

2.3.- INFLUENCIA DE DIFERENTES NUTRIENTES SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL HÍGADO

2.3.1.- INFLUENCIA DE LOS GLÚCIDOS

La composición de la dieta y los tratamientos nutricionales influyen en el tamaño y el peso del hígado (FERREL y KOONG 1986), así como en su contenido de lípidos (AOYAMA *et al.*, 1980; STEWART 1987; FARNWORTH y KRAMER, 1987), aunque hay autores que han observado que estos parámetros no se ven afectados por la dieta (HERZBEG y ROGERSON, 1988a).

Las dietas realizadas con cualquier combinación dietaria de grasa y carbohidrato enriquecidas con colesterol causan un fuerte incremento en el peso del hígado (MEIJER y BEYNEN, 1988; ZSINKA *et al.*, 1988) y, cuando se sustituye parte del almidón en dietas con niveles bajos de grasa, contengan o no colesterol, por diversos tipos de fibra, causan un descenso en la cantidad de colesterol y triglicéridos del hígado (MAZUR *et al.*, 1990). Por otra parte, se ha comprobado que el peso del hígado es significativamente menor en ratas cuyas dietas contienen proteína vegetal que en las que contienen caseína (SUGANO *et al.*, 1988)

La sacarosa estimula la síntesis de lípidos en el hígado (WATERMAN *et al.*, 1975; BACK y ANGEL, 1982; VRANA y FABRY, 1983; IRITANI *et al.*, 1992), por tanto, puede suponerse que aumenta el almacenamiento de triglicéridos (RAMIREZ, 1987).

En experimentos hechos con diversas razas de ratas, los hígados de las ratas que consumieron fructosa tenían un mayor peso que los de aquellas que consumieron glucosa (AOYAMA *et al.*, 1980a), y algunas ratas presentaron hepatomegalia (AOYAMA, 1987), al igual que ocurre con ratas alimentadas con sacarosa frente a otras alimentadas con un pienso comercial (YAMAMOTO *et al.*, 1987) o las alimentadas con sacarosa o fructosa en vez de con almidón, glucosa o un pienso comercial (LEE *et al.*, 1987). El incremento en el peso del hígado, fue debido quizás a incremento en el número -hiperplasia- y en el tamaño -hipertrofia- de las células (BENDER *et al.*, 1972), concluyendo los autores que el peso del hígado podría estar influido tanto por la raza como por la composición de la dieta. Otros autores han hallado que el peso de los hígados de ratas alimentadas con un 50% de sacarosa en la dieta es menor que el de ratas

alimentadas con cantidades iguales de fructosa o con un pienso comercial (JEN *et al.*, 1991); o entre lotes de ratas alimentadas con almidones ricos en amilosas y almidones nativos (MATHÉ *et al.*, 1993) o no encontraron diferencias entre las alimentadas con sacarosa o almidón (BEYNEN y LEMMENS, 1987).

Muchos investigadores (BRUCKDORFER *et al.*, 1972; AOYAMA y ASHIDA, 1973; ROMSOS y LEVEILLE, 1974; AOYAMA *et al.*, 1974a; 1974b; 1975a; 1975b; 1980; YAMAMOTO *et al.*, 1987) mostraron que el contenido lipídico del hígado de ratas alimentadas con dietas que contienen fructosa o sacarosa es mayor que el de las que consumen glucosa o almidón, lo cual está asociado a una mayor conversión de fructosa en ácidos grasos y triglicéridos y a un incremento de la colesterogénesis en el hígado (AOYAMA *et al.*, 1980), o del contenido de colesterol hepático (CHOI *et al.*, 1989). Contrariamente (BEYNEN Y LEMMENS, 1987) encontraron que ratas alimentadas con sacarosa contenían menor cantidad de colesterol en sus hígados que las alimentadas con almidón. Estudios con hepatocitos aislados de ratas alimentadas con fructosa, sacarosa, glucosa o almidón permitieron observar que, en las últimas disminuye la síntesis de esteroides, probablemente debido al mayor contenido de glúcidos complejos fermentables (MAZUR *et al.*, 1990) o al contenido de fibra de esa dieta, aunque parece ser que, en la mayoría de las situaciones, la síntesis de colesterol no está limitada por el suministro del sustrato, acetil-CoA, hacia otros destinos (CARMONA y FREELAND, 1989).

Distintos autores han hallado similares contenidos de grasa en el hígado de ratas alimentadas con fructosa o glucosa (HERZBERG y ROGERSON, 1992). Otros estudios han encontrado un similar contenido lipídico del hígado en ratas de cuatro razas, Wistar, Sprague-Dawley, Fischer y Donryu, que habían consumido dietas que contenían fructosa o glucosa, cuando este contenido fue expresado como miligramos de lípidos por gramo de hígado. Pero cuando este fue expresado como miligramos por hígado por 100 gramos de peso corporal, las ratas que habían consumido fructosa tenían mayor proporción de lípidos hepáticos. De igual forma acontecía para el contenido de colesterol hepático, excepto para la raza Donryu que fue menor, pudiendo ser debido este fenómeno a diferencias entre las razas de ratas, y observándose, además, que, en la rata, el principal órgano de síntesis de colesterol era el hígado (AOYAMA *et al.*, 1987; DIETSCHY *et al.*, 1993). Se han citado diferencias en el grado de actividad de las mitocondrias, gluconeogénesis y lipogénesis entre distintas razas de ratas

(PAN y BERDANIER, 1991).

Por otra parte, se ha observado que el peso de los hígados y el contenido de los mismos en triglicéridos, son mayores en las ratas alimentadas con dietas altas en sacarosa que en ratas alimentadas con un pienso comercial, pero estas diferencias son transitorias y desaparecen después de un periodo de 16 horas de ayuno (DESHAIES, 1986). Resultados parcialmente contrarios a éste fueron obtenidos en ratas alimentadas con dietas altas en fructosa o glucosa y diferentes tipos de grasa, donde después de un ayuno de 23 horas, el contenido de lípidos era similar en todos los grupos, pero el peso de los hígados fue mayor en las ratas que habían consumido fructosa, siendo también mayor en estas el contenido de glucógeno hepático (HERZBERG y ROGERSON, 1988a).

La relación hepatosomática fue mayor en ratas alimentadas con dietas que contenían como fuente glucídica principal sacarosa frente a las que contenían almidón, probablemente debido a que este aumento del peso del hígado estuviese relacionado con un contenido potencialmente mayor de grasa en los mismos, pero no se hicieron análisis histopatológicos ni de otro tipo, para determinar el contenido de grasa del hígado (BATTLES *et al.*, 1991).

Es posible que la fructosa provoque un acúmulo de grasa en el tejido renal y en el hepático, debido a una apariencia amarillenta del primero en ratas a las que se les suministró una dieta alta en fructosa frente a las que se les dio glucosa; además, los pesos frescos de los hígados y de los riñones, así como la relación hepatosomática y renosomática, fueron mayores en las ratas alimentadas con fructosa, comprobándose que este aumento era debido a una acumulación de grasa (BERGSTRÄ *et al.*, 1993) o de glucógeno (VAN DOORMAAL *et al.*, 1987).

La fructosa usa diferentes vías bioquímicas y sujetas a una menor regulación que la glucosa, lo que puede conducir a alteraciones del metabolismo lipídico (FERGUSSON y KOSKI, 1990).

Cuando se utilizan monosacáridos como principal fuente de carbohidratos en la dieta de ratas, los efectos dependen además del tipo de glúcido, de la duración de los tratamientos. Así, los periodos cortos producen aumentos de la cantidad de triglicéridos en plasma, corazón e hígado (periodo de inducción). Periodos de media duración, hasta 40-55 días, se caracterizan por una normalización de las alteraciones anteriormente citadas (periodo de adaptación) y los periodos largos de ingestión de sacarosa, 90-120 días producen otra vez condiciones metabólicas alteradas (periodo recurrente) (JEN *et al.*, 1991).

En un estudio con ratas se observó que, tanto la cantidad como el tipo de glúcido de la dieta, afectaron significativamente al peso del hígado, detectándose que las ratas que habían sido alimentadas con una dieta que contenía un 60% de fructosa, tenían hígados significativamente de mayor peso que las alimentadas con dietas con igual cantidad de glucosa, pero no se encontraron diferencias en el contenido de lípidos del hígado, principalmente triglicéridos, ni en el contenido de agua. El contenido de glucógeno fue también analizado, no encontrándose diferencias significativas. Sin embargo, en las ratas alimentadas con un 60% de fructosa, si hubo una tendencia a tener mayores contenidos de glucógeno en sus hígados (CONLEE *et al.*, 1987; FERGUSSON Y KOSKI, 1990). En experimentos con ratas sometidas a cargas orales de glucosa o fructosa se observó que la fructosa es metabolizada por el hígado en mayor cantidad que la glucosa, para la síntesis de glucógeno o de ácidos grasos y la glucosa por tejidos extrahepáticos; aunque la utilización de la fructosa absorbida por la mucosa intestinal en esta especie es muy variable, estando entre el 2% y el 60% su conversión en lactato (NIEWOEHNER *et al.*, 1984a, 1984b; NIEWOEHNER, 1986).

El contenido de glucógeno del hígado es mayor en las ratas alimentadas con sacarosa que en las alimentadas con almidón y en ratas que han consumido cantidades equimoleculares de fructosa frente a las que lo hacen con glucosa (STORLIEN *et al.*, 1988).

El contenido de proteína hepática no varía marcadamente con los distintos tratamientos nutricionales (KELLEY *et al.*, 1987). Otros autores observaron que la concentración de proteína del hígado fue independiente del carbohidrato de la dieta, sacarosa, fructosa o almidón, así como del fenotipo de la rata (ELLWOOD *et al.*, 1991). Sin embargo, otros estudios sí encontraron diferencias en el contenido de proteínas del hígado, en relación con el fenotipo de la rata, cuando a éstas se les provocaba una esteatosis por consumo crónico de etanol, hallando solamente un aumento del contenido proteico hepático para el fenotipo de rata obesa, pero no para la raza Wistar (KARSENTY *et al.*, 1985). Otros autores si han detectado una disminución del contenido proteico en modelos de esteatosis con ratas (NARCE *et al.*, 1988; BOGIN *et al.*, 1986).

Por otro lado, el aumento en la síntesis de triglicéridos, deposición y secreción, subsecuente a un alto consumo de sacarosa, está claramente relacionado con la rápida hidrólisis de la sacarosa y la veloz absorción de sus monómeros

(REISER *et al.*, 1977), siendo en rata mayor la de la glucosa que la de la fructosa (NIEWOEHNER *et al.*, 1984a, 1984b; NIEWOEHNER, 1986).

Contrariamente, la digestión del almidón y la absorción de sus productos son mucho más lentas, pero muy eficaces, porque requiere la perfecta integración de varios procesos 1) la digestión intraluminal por la α -amilasa pancreática y salival; 2) la hidrólisis de los oligosacáridos por las oligosacaridasas del borde en cepillo; 3) el transporte de la glucosa liberada por los transportadores específicos para la misma, existentes en el borde en cepillo de los enterocitos (GRAY, 1992).

Existe un efecto adaptativo a variaciones en la cantidad de sacarosa en la dieta, aumentando la velocidad del transporte intestinal del disacárido cuando aumenta la sacarosa de la dieta, debido a una mayor actividad sacarasa y a un aumento de los mecanismos de transporte de sus monosacáridos (REISER *et al.*, 1975).

Las alteraciones en la capacidad de transporte de glucosa por el enterocito, en respuesta a cambios en el contenido de carbohidrato de la dieta son bien explicados por un aumento del número de transportadores de glucosa (CHEESEMAN y HARLEY, 1991); para el caso de la fructosa se ha comprobado la existencia de transportadores específicos en el borde en cepillo del enterocito, y, probablemente, el aumento en el número de ellos sea el responsable del incremento de la tasa de absorción, cuando existe una mayor cantidad de fructosa en la dieta (CROUZOUON y KORIEH, 1991). En general, un aumento de las hexosas en la dieta producen un incremento de su absorción, explicado por una mayor actividad de los transportadores y un mayor número de enterocitos. La absorción de fructosa es aumentada por la glucosa por lo que la fructosa de la sacarosa se absorbe más rápidamente que la fructosa sola (LEVIN, 1994).

La actividad de ciertos enzimas lipogénicos (PEARCE, 1983; JUNGEMANN, 1992) y la susceptibilidad de los mismos a inducciones por la dieta son género dependientes (LEE *et al.*, 1987). Está ampliamente demostrado que dietas ricas en carbohidratos afectan a la lipogénesis en el hígado y que la expresión genética de algunos enzimas relacionados con la lipogénesis están regulados por hormonas y dieta (GOODRIDGE *et al.*, 1991), y por los antecedentes dietéticos (BUE y BERDANIER, 1987). Ahora bien, las consecuencias metabólicas de la sustitución de un carbohidrato por otro pueden no ser las mismas.

La sustitución de glucosa o almidón por sacarosa o fructosa en la dieta,

aumenta la lipogénesis en cultivo de hepatocitos de ratas alimentadas con los citados carbohidratos (CARMONA y FREELAND, 1989) y en animales completos, pareciendo que el almidón y la glucosa son los precursores de la síntesis de ácidos grasos en los tejidos extrahepáticos y la sacarosa y fructosa en el hígado (PEARCE, 1983; NIEWOEHNER, 1986; CARMONA y FREELAND, 1989; HERZBERG y ROGERSON, 1988a, 1988b, 1992; TRUSWELL, 1994; UUSITUPA, 1994).

Cuando se mide la lipogénesis hepática *in vivo* y la actividad de ciertos enzimas clave de la lipogénesis, se observa que, en ambos casos, son mayores los valores en las ratas alimentadas con fructosa que con glucosa en presencia o ausencia de grasa en la dieta (ELLWOOD *et al.*, 1991; HERZBERG y ROGERSON, 1988a, 1988b); similares resultados se obtuvieron cuando el carbohidrato era la sacarosa (KATSURADA *et al.*, 1986), comprobando que la lipogénesis respondía más rápidamente a cambios en la dieta que la actividad de los enzimas medidos (KELLEY *et al.*, 1987). Aunque, recientemente se ha hallado que la actividad de los enzimas lipogénicos y el porcentaje de síntesis de ácidos grasos en el hígado son iguales en ratas alimentadas con dietas exentas de grasa, ricas en fructosa o glucosa (HERZBERG y ROGERSON, 1992).

En ratas alimentadas con varios niveles de sacarosa/caseína en la dieta, con y sin grasa, se observó que los enzimas que generan NADPH (enzima málico y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa) podrían no limitar a la lipogénesis, debido a que el hígado contiene cantidades suficientes de los mismos, pero las actividades de estos enzimas son inducibles por la cantidad de glúcido, sacarosa o fructosa, de la dieta (KATSURADA *et al.*, 1986; KELLEY *et al.*, 1987; ELLWOOD *et al.*, 1991). Además, éstas investigaciones demuestran que las actividades de enzimas claves de la lipogénesis, como la citrato liasa (KELLEY *et al.*, 1987), la acetil-CoA carboxilasa, la ácido graso sintetasa, aumentan en ratas alimentadas con altos contenidos de sacarosa o fructosa (KATSURADA, 1986; KELLEY *et al.*, 1987; HERZBERG y ROGERSON, 1992), al igual que la transcripción de sus genes y las concentraciones de sus ARN_m (IRITANI *et al.*, 1992; WAKU, 1992). Similares resultados se obtuvieron para la actividad de la piruvato deshidrogenasa (CARMONA y FREELAND, 1989; DA SILVA *et al.*, 1993) y de la piruvatoquinasa, su transcripción y las concentraciones de sus ARN_m, que aumentaron con la ingesta de fructosa o por concentraciones plasmáticas elevadas de insulina. La actividad de la cetohecoquinasa parece que no está regulada por

hormonas o dieta (NOGUCHI *et al.*, 1992), aunque si es inducible por la cantidad de sustrato (HERZBERG y ROGERSON, 1992), siendo un enzima muy activo en el hígado de rata. Por todo ello, se podría esperar un aumento en el flujo de acetil-CoA hacia la síntesis de grasa (CARMONA y FREELAND, 1989).

Unido a lo anterior se ha podido comprobar que los enzimas clave de las esterificaciones en la síntesis de triglicéridos aumentan su actividad por el consumo de sacarosa (MARSH *et al.*, 1987).

Se ha observado que la actividad de varios enzimas hepáticos, implicados en el metabolismo de la fructosa, a nivel de su conversión a glucosa y de la glucólisis, en ratas alimentadas con dietas ricas en fructosa, aumenta y que necesita de, al menos, nueve días para recuperar sus valores basales, después de someter a los animales a una dieta estándar (KORIEH y CROUZOUOLON, 1991). La actividad de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa aumenta en ratas alimentadas con fructosa o sacarosa, probablemente debido en este último caso, a la fructosa de su molécula (JEN *et al.*, 1991). Igualmente, la actividad de la glucógeno sintetasa I hepática aumenta en ratas sometidas a cargas orales de fructosa o glucosa, pero la fructosa es un mejor precursor de glucógeno que la glucosa en el hígado (NIEWOEHNER, 1986).

Se ha visto que en ratas alimentadas con dietas altas en sacarosa o almidón provocan, sobre todo en las primeras, incrementos en el contenido de ácidos grasos saturados en los fosfolípidos de las membranas que producen descensos en la actividad de la Na⁺/, K⁺-ATPasa, la Mg²⁺-ATPasa, la Ca²⁺-ATPasa y la adenin-nucleotido translocasa. Estos cambios pueden alterar el estado de fosforilación celular (ATP:ADP) (STUBBS y SMITH, 1984) y, consecuentemente, provocar alteraciones en procesos citosólicos, como la síntesis de colesterol (NORUM *et al.*, 1983) y la lipogénesis, que se estimulan con estados altos de fosforilación o la gluconeogénesis, que se ve favorecida con una disminución del mismo (BERDANIER, 1992).

Una posible reconstrucción de los eventos metabólicos en el hepatocito, en respuesta al consumo de dietas con altos contenidos en sacarosa o fructosa podría ser la siguiente (Fig. 3):

- 1) Aumento de la síntesis de glucógeno a partir de glucosa o de precursores de tres átomos de carbono (CONLEE, 1987)
- 2) Aumento de la conversión de la fructosa y la glucosa, vía glucólisis, a piruvato, y subsiguientemente a citrato, con la transformación del exceso de éste

en ácidos grasos.

3) Aumento en la producción de energía desde el flujo glucídico a piruvato y citrato, con una mayor oxidación de acetil-CoA, proveniente de los glúcidos, en el ciclo de Krebs.

4) Aumento en la formación y concentración de malonil-CoA, como resultado de un mayor flujo de citrato a ácidos grasos.

5) Supresión de la oxidación de los ácidos grasos, por el incremento en la síntesis de ATP debido a la combustión de los glúcidos y una inhibición de la carnitina palmitoiltransferasa por el malonil-CoA (ZAMMIT, 1983; SCHULZ, 1991; GUZMAN y GEELEN, 1993).

6) Debido a la constante captación de ácidos grasos y existir una mayor disponibilidad de sustrato, aumentan las reacciones de esterificación y se estimula la síntesis de triglicéridos (ONTKO y WANG, 1989).

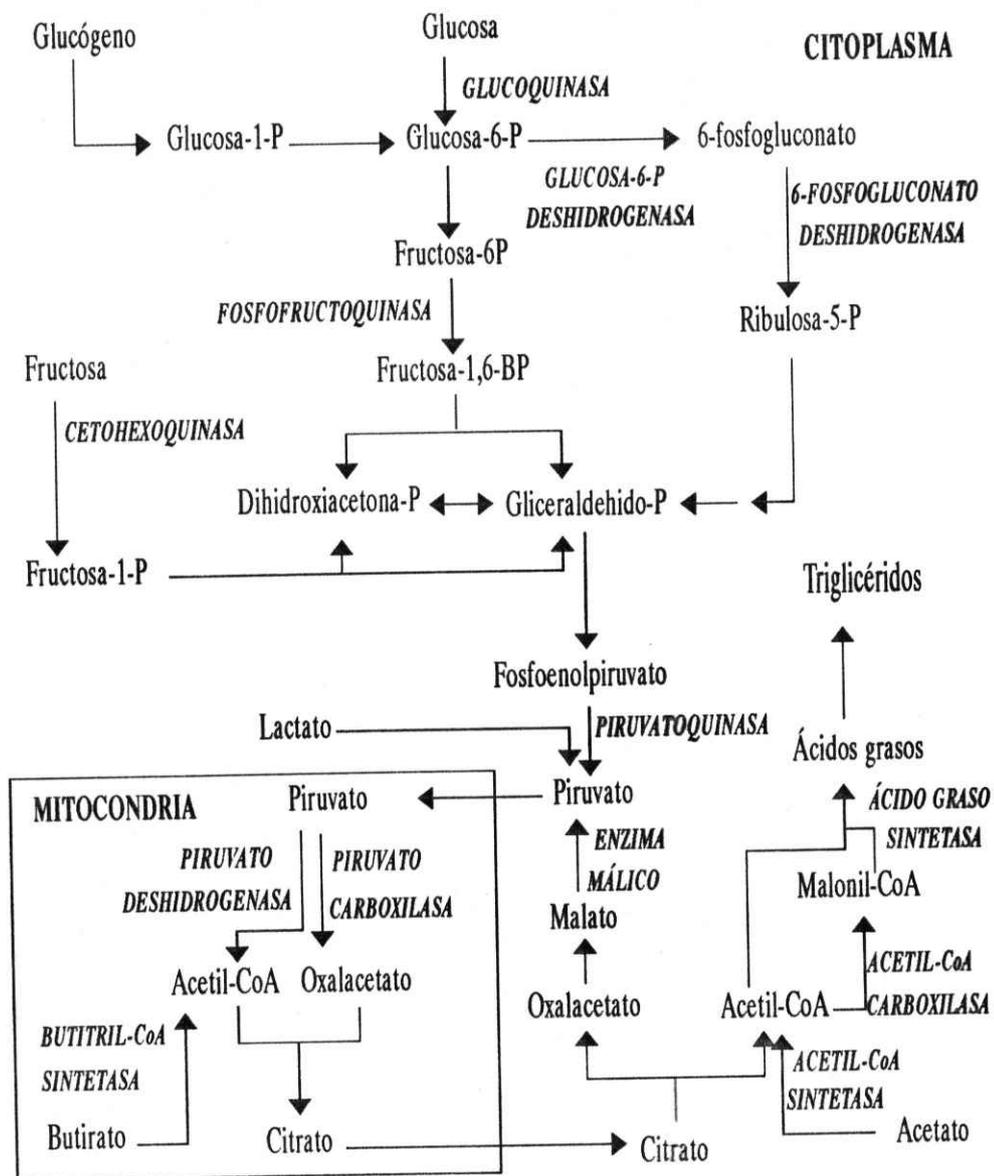
7) Incremento de la transferencia de triglicéridos a los almacenes citoplasmáticos en forma de gotas lipídicas y a las cisternas de retículo endoplasmático para la síntesis de lipoproteínas ricas en triglicéridos (TRUSWELL, 1994). Resultando en :

8) Un mayor depósito de triglicéridos en el hígado y en un aumento de la secreción de lipoproteínas ricas en triglicéridos por el hígado. (YAMAMOTO *et al.*, 1987). Pero poco se conoce de los mecanismos que gobiernan las tasas en un sentido o en el otro (CHAO *et al.*, 1986).

Aceptando el esquema general de formación y secreción de las lipoproteínas propuesto por Alexander *et al.*, y revisado posteriormente (VANCE y VANCE, 1990; GIBBONS, 1990), la unión inicial ocurre en el retículo endoplasmático, donde las distintas apoproteínas, el colesterol, los fosfolípidos y los triglicéridos son ensamblados. Vesículas de transporte conducen a las VLDL nacientes al aparato de Golgi, donde se producen modificaciones de los componentes oligosacáridicos de las apoproteínas y probablemente intercambios entre fosfolípidos. El Golgi también tiene la capacidad de sintetizar la mayor parte de los fosfolípidos que se encuentran en las lipoproteínas. Posteriormente vesículas secretoras transportan a las lipoproteínas a la superficie celular, se fusionan con la membrana celular y son liberadas las lipoproteínas al espacio de Disse y posteriormente al plasma.

En un estado hipercalórico cuando el flujo de carbohidratos excede al que puede ser almacenado como glucógeno, al haber altas concentraciones hepáticas

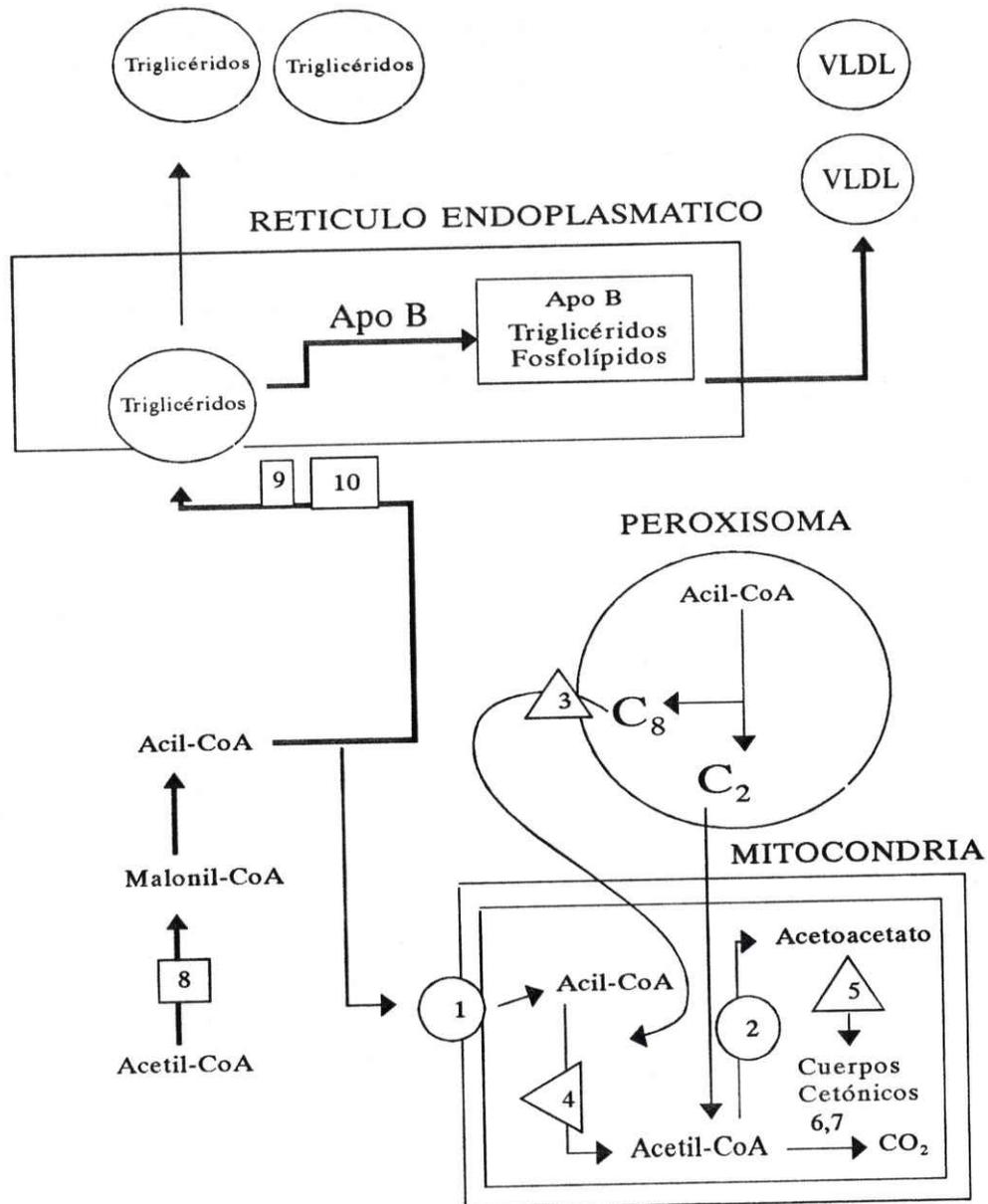
FIGURA 3. Esquema de la reconstrucción de los eventos metabólicos que suceden en el hepatocito, en respuesta al consumo de dietas con altos contenidos en azúcares sencillos.



de ácidos grasos de origen endógeno y al ser saturables los procesos de ensamblaje y secreción de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, la capacidad de síntesis de triglicéridos supera a la de secreción (CHAO *et al.*, 1986; ONTKO y WANG, 1989). Bajo estas circunstancias los triglicéridos se acumulan en el citosol de los hepatocitos (GIBBONS, 1990). En ratas jóvenes la fructosa de la dieta ejerce un efecto inductor, acoplado entre la síntesis y la secreción de triglicéridos hepáticos. En ratas adultas parece que la secreción es menor y menos inducible por la fructosa, probablemente debido a un fallo en la estimulación de la síntesis de apoproteína B, lo que podría causar un hígado graso en estos animales (NASSIR *et al.*, 1993).

Parece que la disponibilidad de la apoproteína B funcional, necesaria para la síntesis de las lipoproteínas, está implicada en la determinación del destino de los triglicéridos (CHAO *et al.*, 1986). En la rata, a diferencia de otros mamíferos, el hígado sintetiza las dos formas de ésta apoproteína, la apo B₄₈ y la apo B₁₀₀ (GIBBONS, 1990). No está claro cual es el mecanismo exacto, pero se conoce que los estados nutricionales que determinan una alta tasa biosintética de ácidos grasos, como una dieta con alto contenido en sacarosa (HARRIS y SMITH, 1992) o fructosa, (ELLWOOD *et al.*, 1991) o baja en grasa (PFEUFFER y BARTH, 1992), aumentan la disponibilidad o la concentración de la apoproteína B o de sus ARN_m, lo que se traduce en una mayor movilización de los triglicéridos hepáticos hacia las rutas de secreción (Fig. 4). Por el contrario, la insulina (DURDEN y GIBBONS, 1990) o dietas con altos contenidos en almidón (ELLWOOD *et al.*, 1991) producen una disminución de la síntesis de apoproteína B, lo que se traduce en un aumento del almacenamiento de triglicéridos hepatocelulares en el conjunto citosólico, disminuyendo así su secreción.

FIGURA 4. Esquema de los procesos de canalización de los ácidos grasos en el hígado formados a partir de precursores glucídicos y la transferencia de los triglicéridos a los almacenes citoplasmáticos en forma de gotas lipídicas y a las cisternas de retículo endoplasmático para la síntesis de lipoproteínas ricas en triglicéridos.



1, Carnitina palmitoiltransferasa. 2, Hidroximetilglutaril-CoA sintetasa. 3, Carnitina palmitoiltransferasa. 4, Acil-CoA deshidrogenasa. 5, Hidroxibutirato deshidrogenasa. 6, Isocitrato deshidrogenasa. 7, Cetoglutarato deshidrogenasa. 8, Acetil-CoA carboxilasa. 9, Fosfatidato fosfatasa. 10, Diacilglicerol aciltransferasa. Las flechas con el trazo más grueso indican un mayor flujo por esa vía.

Diversos pasos pueden observarse en los procesos crónicos o prolongados de incremento en el contenido lipídico del hígado, asociado con ingesta excesiva de energía:

- a) Inducción, en la cual ocurren cambios en el perfil enzimático hepático, tanto en cantidad como en actividad, previo a la acumulación de grasa.
- b) Acumulación de lípidos, debido al incremento en la síntesis de lípidos en el hígado.
- c) Daño en las células del hígado y fuga de enzimas a la sangre, conduciendo a cambios en el perfil enzimático plasmático.
- d) Procesos degenerativos en el hígado y una inversión parcial de las enzimas inducidas (AVIDAR *et al.*, 1986).

Diversos autores utilizan la rata, con alimentación oral (KARSENTY *et al.*, 1985; NARCE *et al.*, 1988, 1992; CONDE-MARTEL *et al.*, 1992, 1993) o parenteral (KEIM, 1987, NUSSBAUM *et al.*, 1992) o ambas (NEY *et al.*, 1993) como modelo animal para el estudio de los distintos factores nutricionales que contribuyen al desarrollo de un síndrome de hígado graso, siendo fundamental su caracterización en la prevención.

La esteatosis es una respuesta común y no específica del hígado a diferentes formas de lesión adquirida o desórdenes metabólicos heredados (SAMARASINGHE y JONES, 1992). Debido a la amplia diversidad de funciones y a la tremenda capacidad regenerativa y de reserva del hígado, es difícil detectar un síndrome de hígado graso antes de que aparezcan daños celulares o serios deterioros en la función hepática. A causa de la interrelación de varios mecanismos patológicos por los cuales la grasa es acumulada en el hígado, es difícil hacer un informe preciso de los mecanismos que operan.

Es posible agrupar las causas patológicas en:

- a) Las que comprenden un desequilibrio de factores metabólicos o nutricionales (desnutrición, dieta baja en proteínas y rica en carbohidratos o grasa, desequilibrio hormonal...).
- b) Las debidas a sustancias tóxicas.
- c) La resultante de anoxia (BERGMAYER, 1974; BOGIN *et al.*, 1978; 1984; 1986; AVIDAR *et al.*, 1986; MORENO, 1993).



En la patogénesis de la esteatosis provocada por alguno de los tipos de causas citadas, pueden concurrir diversos mecanismos, solos o acompañados:

- Incremento de los lípidos de la dieta.
- Aumento de la lipogénesis hepática.
- Mayor movilización de ácidos grasos de los depósitos de grasa periféricos.
- Descenso en la tasa de oxidación de ácidos grasos en la célula hepática.
- Disminución de la secreción de lípidos del hígado como consecuencia de una deficiencia o defectos en la formación de la apoproteína que contienen las VLDL o deterioros en la unión de la apoproteína con los fosfolípidos y triglicéridos en el procesos de síntesis de las lipoproteínas.(GEROK, 1984; ISSELBACHER y PODOLSKY, 1986)

Está bien establecido que la deficiencia proteica o lo que es lo mismo, del nivel de nitrógeno aminoacídico en las dietas puede producir un hígado graso, aunque la importancia relativa del nivel de energía no proteica y de la distribución calórica entre lípidos-glúcidos es determinante en el desarrollo de una esteatosis. Por ejemplo, cuando la proporción de carbohidratos de las soluciones es muy elevada (KEYM, 1987). Sin embargo, cuando la relación molar de insulina/glucagón disminuye por ejemplo, tras la administración de glucagón o por estimulación de su secreción, se ha demostrado que es un preventivo de la aparición de un hígado graso en ratas alimentadas parenteralmente (LI *et al.*, 1990; NUSSBAUM *et al.*, 1992).

Se ha comprobado en trabajos con hepatocitos de rata (VANCE, 1988; YAO y VANCE, 1988; 1989) y con animales intactos (YAO y VANCE, 1990; VANCE, 1990) que existe un requerimiento de colina o precursores de la misma, para la biosíntesis de fosfatidilcolina, necesaria en la composición y secreción de las VLDL, pero no para las HDL, de modo que situaciones que provoquen deficiencias en colina reducen la síntesis de las VLDL, causando un fuerte aumento del depósito de los lípidos hepáticos. Además, parece existir una compartimentación intracelular en los fosfolípidos basada en el origen biosintético y en la base molecular de los mismos (VANCE, 1988) que provoca un uso preferencial de la fosfatidilcolina para la síntesis de lipoproteínas ricas en triglicéridos (TIJBURG *et al.*, 1989). Se ha comprobado que el suministro de



lecitina a las infusiones de pacientes sometidos a nutrición parenteral disminuye la aparición y el desarrollo de una esteatosis (BUCHMAN *et al.*, 1992).

La esteatosis producida por una deficiencia proteica parece ser causa de un impedimento en la formación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, probablemente por una síntesis deficiente de sus apoproteínas, y quizás en parte a una mayor captación hepática de las mismas (BOUZIANE *et al.*, 1992).

La acumulación de triglicéridos en el hígado de ratas alimentadas con dietas altas en sacarosa, puede ser, al menos en parte, atribuida a un aumento de la síntesis hepática de ácidos grasos (LEE *et al.*, 1987) y el aumento de la síntesis de triglicéridos por un alto contenido de sacarosa parece ser responsable en parte de las esteatosis producidas por dietas deficientes en ácidos grasos esenciales (SANDERS, 1988). Además se ha comprobado que modificaciones en el reparto de los ácidos grasos entre las vías de oxidación y esterificación, es decir, alteraciones en la utilización subcelular de los ácidos grasos, contribuyen significativamente también al incremento de la producción, acumulación y secreción de lípidos por el hígado. Altas cantidades de glucosa y fructosa en la dieta producen los mismos efectos. Probablemente sean ambos los principales factores responsables del aumento de lípidos hepáticos, aunque la contribución relativa del aumento de la síntesis hepática de ácidos grasos y del incremento en la relación esterificación:oxidación de los ácidos grasos en el hígado no ha sido establecida (YAMAMOTO *et al.*, 1987).

2.3.2.- INFLUENCIA DE LOS LÍPIDOS

Se ha estudiado que factores dietéticos como las grasas, las proteínas, los carbohidratos o sus constituyentes, influyen sobre los enzimas responsables de la biotransformación de los nutrientes en el hígado (HERZBERG, 1983, 1991; RUTEN y FALKE, 1987; SJÖBLOM y EKLUND, 1990; DANNENBERG y ZAKIM, 1992).

En ratas alimentadas con dietas ricas en aceite de oliva o de maíz pero deficientes en treonina, producen un aumento en la cantidad de los lípidos del hígado (EMKEN, 1984).

Se ha comprobado que dietas con un exceso de histidina afectan tanto a la composición del hígado como a su peso, produciendo hepatomegalia (OHMURA *et al.*, 1986). Las modificaciones enzimáticas ocasionadas interesan al metabolismo de los glúcidos, incrementando las actividades de algunas enzimas clave de la gluconeogénesis y glucogenosíntesis, lo que ocasiona un substancial depósito de glucógeno hepático (AOYAMA *et al.*, 1993) y al metabolismo del colesterol, aumentando su síntesis, por un incremento de la actividad de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coA reductasa, produciendo una hipercolesterolemia (OHMURA *et al.*, 1992).

Por otro lado, se ha observado con cultivos de hepatocitos, que el tipo de grasa afecta a la gluconeogénesis, siendo menor la producción de glucosa cuando las células en cultivo provenían de ratas alimentadas con aceites de pescado que cuando habían sido alimentadas con dietas que contenían aceite de maíz o de coco (KULLEN *et al.*, 1994).

Además de existir diferencias intersexuales (CHOY *et al.*, 1988) los mecanismos compensatorios del hígado para el mantenimiento de la homeostasis del colesterol, parece ser que disminuyen con la edad. Afectando más esta disminución a los procesos catabólicos que a la colesterogénesis (CHOY *et al.*, 1987, 1989).

Distintos autores han hallado que, en roedores, el tipo y la cantidad de la grasa de la dieta afectan al peso del hígado y a su contenido lipídico, incrementándolos (HUANG y HORROBIN, 1987; NISHINA *et al.*, 1990). Otros autores no han observado un efecto significativo de la grasa de la dieta sobre el peso del hígado, ni sobre la relación hepatosomática (SUGANO *et al.*, 1988; ŽACK *et al.*, 199; BALTZELL *et al.*, 1991), ni en la cantidad de lípidos totales

en el mismo (HALMINSKI *et al.*, 1991).

El efecto opuesto sobre el peso del hígado y la relación hepatosomática fue observado por otros investigadores (RUTEN y FALKE, 1987), donde disminuyeron cuando la cantidad de grasa aumentó en la dieta, pero el contenido de lípidos del hígado aumentó cuando la cantidad de grasa de la dieta fue mayor y la grasa más saturada produjo los menores contenidos de lípidos del órgano (FARNWORTH y KRAMER, 1987).

Parece que grasas ricas en monoinsaturados inducen a mayores concentraciones de colesterol hepático. Un aumento en el contenido de colesterol hepático se ha detectado en ratas que consumieron dietas ricas en aceite de oliva exentas de colesterol (BEYNEN, 1988) o con colesterol en la dieta (BEYNEN, 1987). Este aumento del colesterol hepático también ha sido detectado, cuando se ha suministrado dietas realizadas con aceite de semilla de uva, ricas en ácido oleico, y enriquecidas con colesterol frente a otras alimentadas con aceite de palma, palmiste o coco (ZHANG *et al.*, 1990).

El colesterol de la dieta siempre causa un incremento dramático en el contenido de colesterol hepático con todas las combinaciones carbohidrato-grasa de la dieta y el impacto del tipo de glúcido dietario sobre el colesterol hepático es dependiente del tipo de grasa y de la cantidad de colesterol de la dieta (MEIJER y BEYNEN, 1988b). Se ha detectado un gran acúmulo de colesterol, especialmente en el hígado, y el desarrollo de condiciones patológicas, como resultado del uso de grandes cantidades de colesterol en la dieta de animales de experimentación (BEYNEN Y KATAN, 1989).

Ratas alimentadas con dietas ricas en grasas mostraron un aumento en el peso de sus hígados, pero no se hallaron diferencias en el contenido hepático de glucógeno o de lípidos frente a otra a las que se les suministraron dietas con menores cantidades de grasa y mayores de carbohidratos (HARRIS y KOR, 1992).

La ingesta de grasa saturada indujo a un aumento moderado del peso del hígado, en ausencia o presencia de fibra. Las ratas que habían ingerido dietas con colesterol y altas cantidades de grasa presentaron una severa esteatosis, con un drástico aumento en las concentraciones de colesterol y triglicéridos que disminuyeron cuando se añadió fibra a la dieta (LAIRON *et al.*, 1987). Similares resultados en el tamaño y composición del hígado se detectaron en dos razas de ratones alimentados con dietas con altos niveles de grasa (NISHINA *et al.*, 1990)

En rata se ha observado que los animales que habían consumido manteca de coco presentaron menor relación hepatosomática y menor contenido de triglicéridos; lo contrario se observó con el aceite de maíz (MONSMA y NEY, 1993). El consumo de altas proporciones de aceite de girasol produce un aumento de ambos parámetros, no siendo así con el aceite de coco y la manteca (ZSINKA *et al.*, 1987a) o con unas mezclas de grasas con diferente composición en ácidos grasos saturados, insaturados, de cadena larga y media (ZSINKA *et al.*, 1987b, 1988). También fueron mayores en ratas alimentadas con dietas ricas en aceite de oliva o de maíz frente a otras grasas saturadas; o se observaron variaciones en el peso del hígado ni en la relación hepatosomática, pero se detectó una disminución en la cantidad de triglicéridos hepáticos en las ratas que no habían ingerido aceite de maíz o de cacahuete (KRITCHEVSKY *et al.*, 1990).

Un aumento en el tamaño del hígado ha sido apreciado en ratas normales y obesas (MOHAN *et al.*, 1991), jóvenes (CHOI *et al.*, 1989; SAITO *et al.*, 1990; PARRISH *et al.*, 1991) y adultas (YAMAZAKI *et al.*, 1987; CHAUTAN *et al.*, 1990; AWAD *et al.*, 1990; HILL *et al.*, 1993) alimentadas con dietas ricas en aceites de pescado. Incluso se ha detectado una hepatomegalia, con un aumento progresivo de la cantidad de triglicéridos con altas ingestas de aceite de maíz o de pescado (OTTO *et al.*, 1991). En otro estudio de los mismos autores, los resultados obtenidos fueron similares, a excepción del contenido hepático de triglicéridos, que no se vio incrementado, pero las cantidades de grasa utilizadas en la dietas fueron menores (OTTO *et al.*, 1992). Por el contrario, se ha hallado un incremento probablemente transitorio, en la proporción de lípidos: colesterol, triglicéridos y fosfolípidos, en corazón e hígado en ratas alimentadas con dietas ricas en aceite de pescado en comparación con las que consumieron aceite de coco (HAUG y HØSTMARK, 1987).

El contenido de triglicéridos aumentó con la cantidad de grasa de la dieta, pero este incremento fue mayor con las grasas de origen vegetal que con las de origen animal marino, no encontrándose cambios en el contenido hepático de fosfolípidos, ni en el peso del hígado (RUSTAN *et al.*, 1992). Similares resultados se obtuvieron cuando se aumentaron las proporciones de ácido oleico en la dieta, manteniéndose constante la relación n-6 /n-3 (LEE *et al.*, 1991), o en ratas alimentadas con aceite de oliva frente a otras a las que se les suministró aceite de pescado en la dieta (LOTTENBERG *et al.*, 1992).

Se observó un aumento del tamaño del hígado y en la relación

hepatosomática, sin variaciones en el contenido de triglicéridos, en ratas cuando estas consumieron cantidades crecientes de aceite de semilla de lino (KRITCHEVSKY *et al.*, 1991). Pero ratas alimentadas con aceite de lino, rico en ácidos grasos n-3, no presentaron modificaciones en el tamaño hepático, aunque su contenido lipídico total y de fosfolípidos fue menor que los de las que habían sido alimentadas con aceite de girasol rico en ácidos grasos n-6 (JIANG y SIM, 1992). Aunque una considerable infiltración de triglicéridos hepáticos, sin cambios en la masa del hígado, ha sido observado en ratas alimentadas con bajos niveles de grasa en la dieta (0,5%), que fue reducida con el aumento de la cantidad de grasa de la dieta (10%), aceite de soja, fosfolípidos de yema de huevo y de soja (IDE *et al.*, 1992). Un aumento en el tamaño del hígado ha sido detectado en ratas alimentadas con aceite de coco frente a las que habían consumido aceite de oliva o aceites vegetales muy poliinsaturados; únicamente se observó una disminución en la relación hepatosomática, para estos últimos aceites (STANGL *et al.*, 1993). También ha sido observado un aumento de la relación hepatosomática en ratas alimentadas con aceite de oliva o de coco, lo cual no se ha detectado en aquellas que habían ingerido mantequilla, aceite de maíz o manteca de vaca, detectándose que el contenido de triglicéridos y colesterol hepático en las que consumieron manteca, aceite de coco o mantequilla fue menor que las de aceite de maíz o aceite de oliva (LAI *et al.*, 1991).

En trabajos realizados en ratas alimentadas con dietas ricas en carbohidratos o en ácidos grasos de cadena media o de cadena larga, no se observaron diferencias en el peso del hígado. Las cantidades de glucógeno hepático fueron similares en los animales alimentados con las dietas ricas en glúcidos o en ácidos grasos de cadena media pero fueron menores en los animales alimentados con las dietas ricas en ácidos grasos de cadena larga (CHANEZ *et al.*, 1991).

Se encontraron diferencias en el peso del hígado y en su composición al comparar animales alimentados con un pienso comercial, una dieta exenta de grasa, una dieta rica en aceite de maíz y otra rica en grasa saturada, hallando un incremento en el peso del órgano de los animales alimentados sin grasa y no hubo diferencias entre las dos grasas utilizadas; en cuanto al contenido lipídico únicamente fue mayor en las ratas alimentadas sin grasa (NELSON *et al.*, 1987a).

En lo que respecta a la etiología de la aparición de un hígado graso, uno de los factores que lo producen, es un consumo con un alto contenido calórico,

por ejemplo una ingesta muy elevada en grasas (GEROK, 1984). Se ha estudiado que proporciones calóricas de origen lipídico por encima del 50%, inducen a la aparición de un hígado graso en ratas alimentadas parenteralmente (KEIM, 1987). La esteatosis durante la alimentación parenteral o un aumento en la cantidad de triglicéridos y fosfolípidos hepáticos, han estado asociada, entre otros motivos, a una deficiencia en ácidos grasos esenciales (VERGROESEN, 1989; CHAPKIN, 1992), la adición de lípidos conteniendo los ácidos grasos esenciales, por debajo de las cantidades anteriormente citadas, a las soluciones, elimina virtualmente la deficiencia (SANDERS, 1988), pero en muchos casos la esteatosis persiste. Por lo que parece que el suministro de lípidos, hasta los niveles anteriormente indicados, previene la aparición de una esteatosis, disminuyendo la relación plasmática insulina/glucagón que se sabe que ejerce un efecto protector (NUSSBAUM *et al.*, 1992).

El tamaño relativo del hígado de ratas alimentadas con grasas hidrogenadas vegetales ricas en ácidos grasos *trans* fue virtualmente el mismo de aquellas que consumieron aceite de oliva constituido por ácidos grasos *cis* (HANIS *et al.*, 1989), pero el contenido hepático de colesterol y triglicéridos fue menor en las primeras (WATANABE *et al.*, 1984) o no hubo cambios en los triglicéridos (SUGANO *et al.*, 1983) y no se hallaron diferencias en la concentración de fosfolípidos hepáticos (SUGANO *et al.*, 1983, 1984).

La deposición de ácidos grasos *trans* en diversos tejidos de rata, incluyendo al hígado, aumenta cuando son alimentadas con grasas hidrogenadas (BONAGA *et al.*, 1980; HOLMAN *et al.*, 1983). La cantidad depositada de los mismos en los triglicéridos (PRIVETT *et al.*, 1966; ENTRESSANGLES, 1986) y en los fosfolípidos del hígado es similar para diferentes tipos de grasas parcialmente hidrogenadas: de origen marino o de origen vegetal (HØLMER *et al.*, 1982) y aumenta proporcionalmente a la cantidad presente en la dieta (HOUTSMULLER, 1978).

Los datos indican que, excepto bajo condiciones extremas de experimentación, las grasas hidrogenadas tienen poca influencia sobre la composición de los lípidos en los tejidos. Ciertos autores ha observado un incremento moderado de los triglicéridos en el hígado por consumo de grasas parcialmente hidrogenadas frente a un pienso comercial, sin efectos sobre los fosfolípidos hepáticos; mientras que otros han observado lo contrario (EMKEN, 1984); o ausencia de efectos. También se han observado incrementos del peso del

hígado en ratones alimentados con aceite de soja, muy hidrogenado, conteniendo altas cantidades de ácidos grasos *trans* (GOTTENBOS, 1983).

Por otro lado, parece que la posición del doble enlace *trans* afecta de forma diferente y los isómeros poseen efectos fisiológicos distintos. De esta manera se ha comprobado que ciertos isómeros producen un aumento significativo en la concentración de lípidos del hígado (BEYERS y EMKEN, 1991).

Las grasas hidrogenadas de pescado o vegetales, que contienen altas cantidades de isómeros *trans*, pueden causar un aumento de los triglicéridos en el tejido cardíaco. Este depósito lipídico en el corazón parece que se desarrolla bajo condiciones que potencian la síntesis de triglicéridos y disminuyen la tasa de oxidación de los ácidos grasos (NORUM *et al.*, 1989).

No se detectaron variaciones en la cantidad de proteína del hígado en ratas alimentadas con dietas ricas o exentas de colesterol (SJÖBLOM y EKLUND, 1990), ni se encontraron variaciones marcadas con la cantidad (RUTEN y FALKE, 1987) ni con el tipo de la grasa de la dieta (KELLEY *et al.*, 1987; HALMINSKI *et al.*, 1991). El contenido proteico del hígado varió muy poco con diferentes dietas: libre de grasa, rica en aceite de maíz, un pienso comercial y rica en grasa saturada, disminuyendo ligeramente en los animales que consumieron dieta exenta de grasa (NELSON *et al.*, 1987a). Se hallaron disminuciones patentes en el contenido total de proteínas y de lípidos del hígado en ratas mantenidas con una restricción calórica entre los días 14 y 21 del tratamiento (YOUNG *et al.*, 1993).

Los exámenes histopatológicos realizados por varios autores no han revelado anormalidades en los hígados de ratas o ratones alimentados, de forma crónica, con grasas hidrogenadas de distintos orígenes (GOTTENBOS, 1983; EMKEN, 1984; HANIS *et al.*, 1989). Por el contrario, en otro trabajos sí que se han hallado evidencias de acumulación lipídica en hígado de ratas alimentadas con manteca de coco (MORRISSEY *et al.*, 1986), dietas lipogénicas (ZSINKA *et al.*, 1988) o ratones alimentados con dietas altas en grasas y con dietas aterogénicas (NISHINA *et al.*, 1990).

En el hígado *in vivo* existen cuatro fuentes potenciales de triglicéridos: síntesis endógena de ácidos grasos a partir de pequeños precursores, ácidos grasos plasmáticos libres exógenos, ácidos grasos derivados de la captación de las lipoproteínas y el almacén citoplasmático de triglicéridos (GIBBONS, 1990; GIBBONS y BURNHAN, 1991).

La primera de las cuatro fuentes, la lipogénesis, conversión de substratos no lipídicos en lípidos, la podemos dividir en cuatro partes:

a) La formación de acetil-CoA citoplasmático desde precursores no lipídicos, vía glucólisis junto a la acción de la piruvato deshidrogenasa.

b) La conversión del acetil-CoA en acil-CoA por la acción de la acetil-CoA carboxilasa y la ácido graso sintetasa.

c) Abastecimiento de NADPH necesario para la síntesis de los ácidos grasos vía síntesis de fosfogluconato junto a la acción del enzima málico.

d) La incorporación de los ácidos grasos formados en triglicéridos por la acción de la glicerolfosfato aciltransferasa, fosfatidato fosfatasa y la diacilglicerolfosfato aciltransferasa (HERZBERG, 1983).

Cada una de estas partes se conoce que están reguladas por cambios en las cantidades de los enzimas implicados, en respuesta a la composición de la dieta y al estado nutricional del animal (KATSURADA *et al.*, 1986; HERZBERG, 1991). Además la susceptibilidad a inhibiciones por la grasa de la dieta de los enzimas de la lipogénesis difiere dependiendo del sexo del animal y de la edad (SUH *et al.*, 1990).

Los estudios sobre la síntesis de ácidos grasos, realizados en cultivo de hepatocitos (NOSSEN *et al.*, 1986) o *in vivo* en el hígado de mamíferos, indican que ésta puede ser inhibida por bajas cantidades de ácidos grasos poliinsaturados. Pero que las mismas proporciones de grasa saturada en la dieta no parecen ejercer el mismo efecto y todavía existe alguna controversia en cuanto a la acción de los ácidos grasos saturados sobre la biosíntesis de ácidos grasos (NELSON, 1992). La inhibición de la síntesis de los ácidos grasos por la grasa de la dieta observada es específica y no es el resultado de una reducida ingesta de carbohidratos al añadir la grasa dietaria; no está limitada a los ácidos grasos de la serie n-6, los de la serie n-3 también son efectivos en disminuir este proceso (SHILLABEER *et al.*, 1990; HERZBERG, 1991; DA SILVA *et al.*, 1993).

En el tejido adiposo parece ser más importante la cantidad de grasa de la dieta que el tipo de la misma (HERZBERG, 1983). Aunque, ciertos autores no hallan un efecto inhibitorio de la lipogénesis en tejido adiposo al añadir a la dieta aceite de maíz o una grasa vegetal hidrogenada (NELSON *et al.*, 1987b) o grasa saturada (PEARCE, 1983).

La capacidad de la grasa saturada para suprimir la actividad de los enzimas lipogénicos, equiparable a la poliinsaturada, se ha observado con niveles de la

misma en la dieta del 50% (WILSON *et al.*, 1990). Una de las razones que encuentran los autores al hecho de un menor efecto de la grasa saturada, es su menor tasa de absorción intestinal, pero, a niveles equivalentemente absorbidos de grasa, las saturadas no tienen efecto o es muy débil (NELSON *et al.*, 1987b). Por otra parte, los valores de la digestibilidad de varias grasas saturadas y poliinsaturadas fueron comparables (KHOR y CHONG, 1988) o menores para la saturada (APGAR *et al.*, 1987). Los ácidos grasos de cadena media no parecen tener un efecto inhibitorio sobre la actividad de los enzimas lipogénicos (CHANEZ *et al.*, 1988; LEVY *et al.*, 1991), incluso cuando éstos han sido estimulados por una alta ingesta de carbohidratos (CHANEZ *et al.*, 1991).

La ácido graso sintetasa es un enzima que se conoce que es inducida por la ingesta de carbohidratos y su actividad decrece por la ingesta de grasa. El efecto de la grasa de la dieta es debido tanto a los ácidos grasos de la serie n-3 como a los pertenecientes a la familia del linoleico (NELSON, 1992; SZEPESI, 1992).

El paso limitante en la síntesis de ácidos grasos parece ser el regulado por la acetil-CoA carboxilasa, que está sujeto a una regulación a dos niveles, por un lado, una regulación alostérica por citrato y ácidos grasos, y, por el otro, a mecanismos de fosforilación/desfosforilación (HERZBERG, 1991).

En los experimentos realizados en rata a las que se les alimentó con glucosa o fructosa en la dieta variando la cantidad de grasa para ver su repercusión sobre la lipogénesis, tanto hepática como extrahepática, se detectaron disminuciones en las actividades de los principales enzimas lipogénicos, cuando se añadió aceite de maíz a las dietas. La grasa dietaria ocasionó una disminución de la lipogénesis hepática paralela al descenso en las actividades enzimáticas estudiadas. Este descenso se produjo en mayor grado en la lipogénesis hepática que en la extrahepática. Sugiriendo que parece ser más sensible a la inhibición por la grasa dietaria la lipogénesis hepática (HERZBERG y ROGERSON, 1988a; 1992).

La actividad del complejo ácido graso sintetasa disminuyó cuando el contenido de ácido linoleico aumentó en la dieta hasta valores de un 2,5%, por encima de los cuales (2,5%-10%) no se vio efecto alguno. Sin embargo, cuando la dieta no contenía sacarosa para estimular la lipogénesis, no se encontró ningún efecto del linoleico sobre la actividad del enzima (DECKERE *et al.*, 1993).

La reducción de la actividad de los enzimas clave de la lipogénesis parece

ser mayor con grasa de origen marino animal que de origen vegetal (SHEPPARD y HERZBREG, 1992).

En trabajos realizados con ratas utilizando diferentes tipos de grasas y glúcidos en las dietas, se comprobó que la actividades enzimáticas de la acetil-CoA carboxilasa, del complejo ácido graso sintetasa, de la citrato liasa y de los enzimas implicados en el abastecimiento de NADPH, así como la lipogénesis fueron inhibidas por ácidos grasos de cadena larga (CHANEZ *et al.*, 1988); por el ácido eicosapentenoico (WILLUNSEN *et al.*, 1993); o disminuyeron como consecuencia de la adicción en la dieta de los siguientes tipos de grasa, según este orden de intensidad: sebo < aceite de maíz < aceite de origen marino animal. Siendo mayor la disminución con las dietas realizadas con fructosa que con glucosa (HERZBERG y ROGERSON, 1988b). En relación al tipo de grasa, resultados similares a los anteriores sobre la lipogénesis se han obtenido usando dietas realizadas con sebo, aceite de soja o aceite de caballa (SHU *et al.*, 1990); o aceite de coco, aceite de girasol o aceite de pescado (MOHAN *et al.*, 1991). De igual manera, otros investigadores han hallado que los ácidos grasos poliinsaturados de la dieta producen descensos en la actividad de los enzimas que generan NADPH y de la actividad de los enzimas clave de la síntesis de los ácidos grasos como la acetil-CoA carboxilasa (BLAKE *et al.*, 1990) y la piruvato deshidrogenasa (DA SILVA *et al.*, 1993).

La reducción de la lipogénesis por la grasa de la dieta parece ser causada además por una inhibición de la transcripción, produciendo que el contenido de los ARN_m específicos de los enzimas lipogénicos disminuya en el hígado (KATSURADA *et al.*, 1986b; BLAKE y CLARKE, 1990; SZEPESI, 1992) y en el tejido adiposo (SHILLABEER *et al.*, 1990).

Los ácidos grasos, tanto endógenos como exógenos, necesariamente han de ser activados, para cualquiera que sea su destino metabólico, mediante la acción de un grupo de enzimas, las acil-CoA sintetetas, que tienen poca influencia en la regulación del metabolismo de los mismos (GUZMAN y GEELLEN, 1993). Poseen una actividad alta en el hígado para un amplio rango de ácidos grasos, incluyendo a los isómeros *trans*. Se ha comprobado que la actividad de los mismos está afectada por el estado nutricional del animal y aumenta tras la ingesta de dietas ricas en grasas o glúcidos, así como sus ARN_m (WAKU, 1992).

La síntesis de triglicéridos parece estar controlada por una regulación coordinada en las actividades de los pasos catalizados por los enzimas fosfatidato

fosfatasa y la diacilglicerol aciltransferasa y por la biodisponibilidad de substratos (TIJBURG *et al.*, 1989).

La cantidad de grasa de la dieta activa las reacciones de esterificación aumentando la síntesis de triglicéridos (HERZBERG, 1983; RUSTAN *et al.*, 1992).

Las grasas poliinsaturadas de origen marino animal disminuyen la actividad de la fosfatidato fosfatasa, responsable de la disponibilidad de los diacilgliceroles para las reacciones de esterificación. La dieta rica en carbohidratos tiene un efecto contrario y además estimula la actividad de la diacilglicerol aciltransferasa (MARSH *et al.*, 1987), aumentando la concentración de diacilgliceroles en el hígado (ONTKO y WANG, 1989). Un efecto similar a la de los aceites de pescado, sobre la disponibilidad de los diacilgliceroles ha sido observado con el aceite de soja y los fosfolípidos de soja o los de yema de huevo (IDE *et al.*, 1992).

Por otro lado, otros investigadores no han encontrado diferencias en la actividad de la diacilglicerol aciltransferasa en hígados de animales alimentados con diferentes tipos de grasa, aceites de pescado o vegetales (HERZBERG, 1991); o aceite de girasol, de pescado (OTTO *et al.*, 1991) o de palma; pero la actividad de la fosfatidato fosfatasa si se decrece según el tipo de la grasa administrado en el siguiente orden de intensidad: aceite de palma, aceite de girasol y aceite de pescado (HALMINSKI *et al.*, 1991). Sin embargo, otros investigadores no observaron modificaciones de la fosfatidato fosfatasa entre las grasas que se estudiaron, aceite de girasol, de pescado y de semilla de lino; pero una menor actividad de la diacilglicerol aciltransferasa y de la síntesis de triglicéridos, fue detectada en las ratas alimentadas con el aceite de pescado comparándola con grasas de origen vegetal (RUSTAN *et al.*, 1992) o en estudios con cultivos de hepatocitos de rata, independientemente del tipo de ácido graso poliinsaturado (STRUM-ODIN *et al.*, 1987).

En la rata, otra de las fuentes que participan en el ingreso de ácidos grasos al hígado, es el retorno de lipoproteínas desde los tejidos periféricos. La aportación por este mecanismo es dependiente de la actividad de la lipasa hepática sobre los triglicéridos de estas partículas. Está demostrado que la afinidad del enzima por las mismas es inversamente proporcional al tamaño de la partícula, además este proceso se puede ver favorecido en la rata, por la posesión en los remanentes de lipoproteínas ricas en triglicéridos de apoproteína B₄₈ (GIBBONS,

1990; WELCH y BORLAKOGLU, 1992). En ratones se ha mostrado que el aumento en la apo B plasmática observado, tras un consumo de dietas con altas proporciones de grasa, es debido a un incremento en la apo B₄₈ (NISHINA *et al.*, 1990). La actividad del enzima aumenta en ratas alimentadas con una dieta deficiente en ácidos grasos esenciales (LEVY *et al.*, 1990).

Dietas con altas cantidades de grasa, donde la mayor fuente de ácidos grasos para la síntesis de triglicéridos son de origen exógeno, la capacidad de secreción de triglicéridos es baja o disminuye, incluso cuando esta ha sido estimulada por una dieta rica en hidratos de carbono (HERZBERG y ROGERSON, 1988a; 1992). Además, el tipo de grasa afecta de forma diferente a los procesos de secreción de los triglicéridos, siendo ésta mayor con las grasas saturada y disminuye con la ingesta de monoinsaturadas y poliinsaturadas de cualquier familia (DAGGY *et al.*, 1987; HERZBERG y ROGERSON, 1988b; LAI *et al.*, 1991). Algunos autores sugieren que, a bajas cantidades en la dieta, los aceites de pescado limitan la síntesis de triglicéridos y, a altas cantidades, la secreción de los mismos. Al ser excedida la capacidad de secreción, se acumulan (OTTO *et al.*, 1991, 1992). Parece que los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3, disminuyen la síntesis de triglicéridos pero aumentan la de fosfolípidos, cuando se comparan ambas tasas de producción (YEO y HALUB, 1990; BRUCNER, 1992).

La cantidad de ácidos grasos disponibles hacia la rutas de secreción posee una gran poder regulador (NORUM *et al.*, 1983). Los factores que determinan el reparto entre las rutas de secreción o almacenamiento de triglicéridos, no discriminan entre ácidos grasos de distintos orígenes. No existen dudas en afirmar que los procesos de formación de lipoproteínas ricas en triglicéridos son saturables; cuando la presencia de ácidos grasos extracelulares es alta, la capacidad de síntesis de estas partículas se ve superada por la capacidad de formación de triglicéridos y éstos se acumulan en el citoplasma de las células hepáticas (GIBBONS, 1990; GIBBONS y BURNHAM, 1991).

Contrariamente, algunos investigadores sugieren la posibilidad de que los ácidos grasos saturados de origen exógeno, aunque químicamente sean iguales a los sintetizados endógenamente, tengan acciones fisiológicas diferentes (NELSON *et al.*, 1987a). Dicha conjetura nace del hecho de los distintos destinos que pueden seguir ciertos ácidos grasos según el origen que posean. El ácido esteárico sintetizado endógenamente es extensamente convertido a oleico, mientras que el

ácido esteárico de la dieta no es desaturado con rapidez, sino que probablemente sea oxidado. Ni el láurico, ni el mirístico libres son presumiblemente sintetizados endógenamente y el palmítico es elongado a esteárico o esterificado para formar otros lípidos complejos. La compartimentación de todos estos procesos debe ser rígida con escasos intercambios entre oxidación y síntesis (NELSON, 1992).

Por otro lado, algunos investigadores sugieren la posibilidad de una captación hepática de quilomicrones distinta según sea diferente su composición en ácidos grasos (WANG y KOO, 1993).

El hígado puede acumular triglicéridos por una inadecuada síntesis de fosfolípidos, debido a una dieta deficiente en ácidos grasos poliinsaturados, por ejemplo alta en grasas muy hidrogenadas (NELSON *et al.*, 1987a), ya que parece que, para una adecuada síntesis y secreción de lipoproteínas ricas en triglicéridos, se requiere fosfatidilcolina (YAO y VANCE, 1989) o preferentemente su síntesis activa (YAO y VANCE, 1988; VANCE, 1990), colesterol (KHAN *et al.*, 1990) o síntesis activa del mismo, al igual que sucede con los triglicéridos (VANCE y VANCE, 1990). Las deficiencias proteicas en la dieta amplifican este efecto debido a que provocan una menor disponibilidad de los ácidos grasos poliinsaturados (BOUZIANE *et al.*, 1992). La disponibilidad de apoproteína B parece estar involucrada en este proceso (CHAO *et al.*, 1986). Así, dietas con alto contenido en grasa (GIBBONS y BURNHAM, 1991) o grasas ricas en ácidos grasos de la familia n-3, (BRUCKNER, 1992) producen una disminución de la síntesis y secreción de apoproteína B. Parece que el mecanismo responsable de la disminución de la secreción de VLDL por la ingesta de ácidos grasos n-3, es una estimulación de las tasas de degradación intracelular de las moléculas de apoproteína B sintetizadas (YAO y McLEOD, 1994). Distintos investigadores no han observado un aumento en la tasa de síntesis de la apoproteína B o de la cantidad de sus ARN_m (SRIVASTAVA *et al.*, 1991) en respuesta a una mayor disponibilidad de los lípidos en la dieta, o los resultados obtenidos han sido contradictorios (RIBEIRO *et al.*, 1992). Por lo que parece que el gen de la apo B se expresa constitutivamente, y que esta sea la razón de que se haya observado que la apoproteína B sea mantenida a una cantidad relativamente alta y constante, con los diferentes tratamientos dietéticos, el exceso de la misma es destruido en el retículo endoplasmático. Si el suministro de lípidos o el perfil de ácidos grasos de los triglicéridos formados en el hígado, altera o no las tasas de secreción de la apo B en los procesos de formación de las VLDL, es donde puede haber

controversia (VANCE y VANCE, 1990; NORUM, 1992).

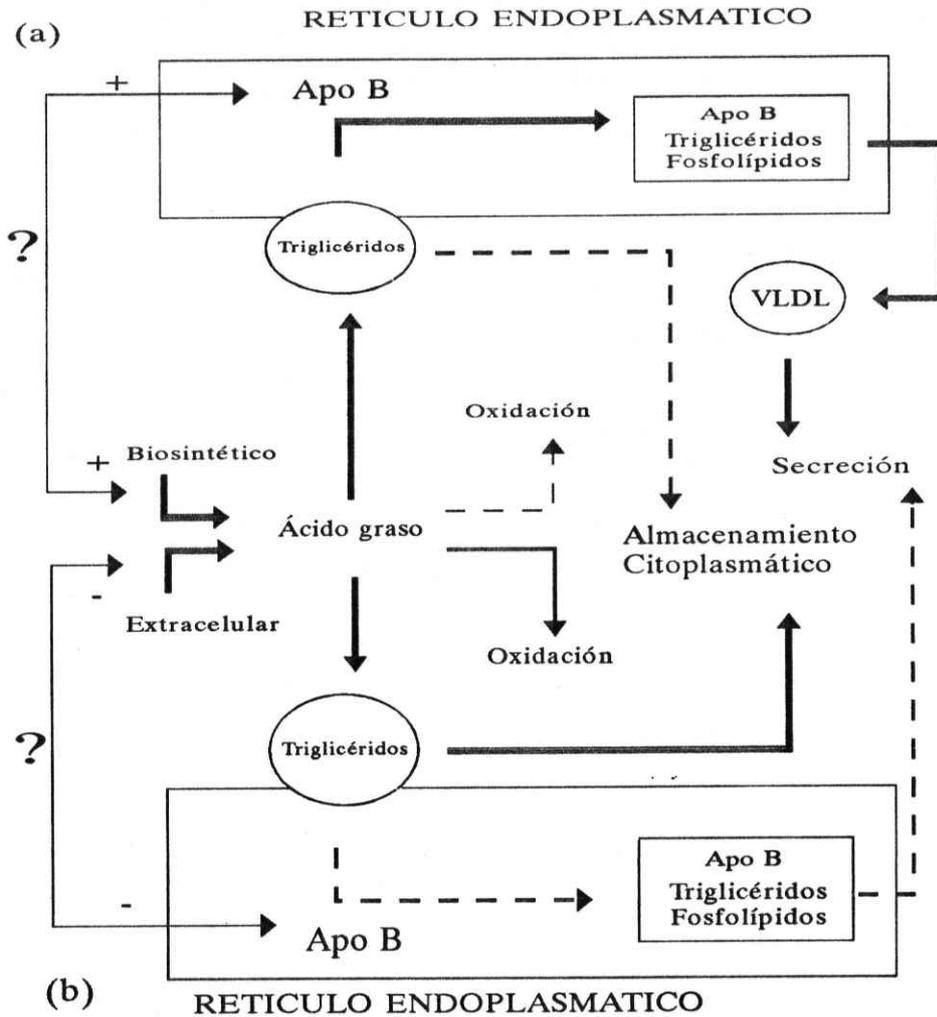
La formación de lipoproteínas ricas en triglicéridos es un proceso muy complejo que requiere la síntesis coordinada de cada uno de sus constituyentes; apoproteína B, fosfolípidos, triglicéridos, colesterol, ésteres de colesterol, además de otros factores celulares menos definidos. Pero los mecanismos subyacentes por los cuales se coordina el proceso de ensamblaje de los componentes lipídicos individuales y la apoproteína B son desconocidos (YAO y McLEOD, 1994).

Existe una interacción entre la síntesis de ácidos grasos, la oxidación y la esterificación en triglicéridos y fosfolípidos de los mismos, que, en parte, va a determinar el destino hacia las rutas de secreción y/o su retención en el hígado (FUKUDA y ONTKO, 1984; YAMAMOTO *et al.*, 1987; NORUM, 1992). Algún factor desconocido debe regular el reparto entre el almacenamiento y el uso metabólico de los mismos (GIBBONS, 1990; DUPONT *et al.*, 1991) (Fig. 5).

El hígado es un tejido que puede expresar o altas tasas de lipogénesis o altas tasas de oxidación de ácidos grasos. Es muy importante que estos dos procesos estén inversamente controlados. La disponibilidad de substratos oxidables no es el único factor de control determinante de la capacidad de oxidar ácidos grasos del hígado.

Además y más importantes, son un número de mecanismos de control a nivel de pasos reguladores, siendo los de mayor trascendencia los que actúan la carnitina palmitoiltransferasa en la membrana mitocondrial externa y la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintetasa en la mitocondria. El estado nutricional y factores hormonales, como la relación glucagón/insulina, intervienen en esta regulación (ZAMMIT, 1983; SCHULZ, 1991; GUZMAN y GEELLEN, 1993) (Fig. 6).

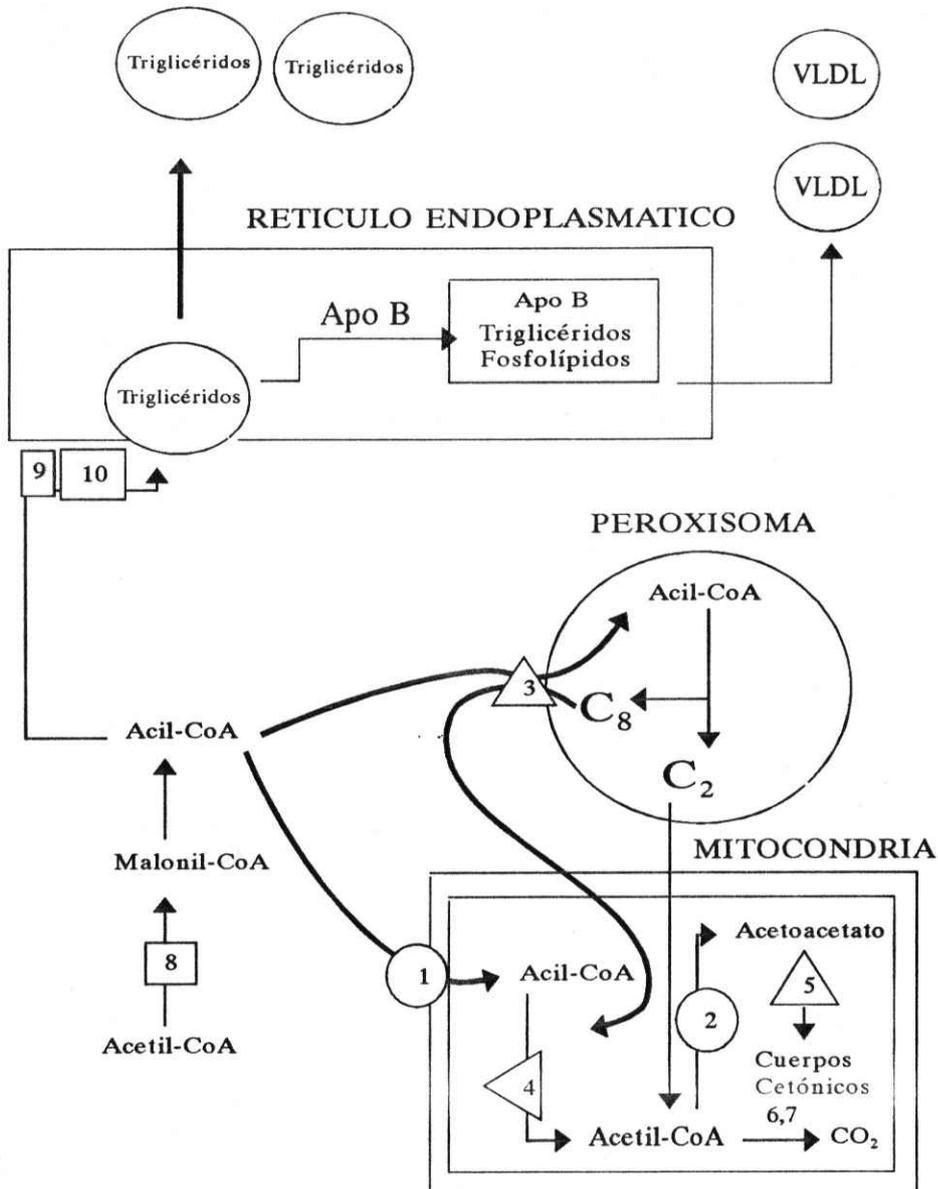
FIGURA 5. Esquema de los procesos de canalización de los ácidos grasos de origen dietético y endógeno en el hígado, así como, de su transferencia a los almacenes citoplasmáticos, en forma de gotas lipídicas y a las cisternas de retículo endoplasmático para la síntesis de lipoproteínas ricas en triglicéridos.



(a) Cuando la tasa de síntesis de ácidos grasos es alta, hay un aumento en la disponibilidad de apo B funcional en el retículo endoplasmático, lo que conduce a un mayor ensamblamiento y secreción de partículas ricas en triglicéridos, mientras que el transporte de triglicéridos al citosol está relativamente suprimido. Bajo estas condiciones la oxidación de los ácidos grasos es inhibida. (b) Una baja tasa de síntesis de ácidos grasos está asociada con un descenso en la disponibilidad de apo B funcional. La formación de lipoproteínas ricas en triglicéridos disminuye y se produce un aumento relativo en la cantidad de triglicéridos que ingresan en el citosol. En estas condiciones la tasa de oxidación de ácidos grasos aumenta. + y - indican los cambios coordinados entre la tasa de síntesis de ácidos grasos y la disponibilidad de apo B en el retículo endoplasmático.



FIGURA 6. Esquema de los procesos oxidativos de los ácidos grasos en el hígado y sus principales enzimas reguladores y de los procesos de canalización de los ácidos grasos de origen dietético así como de su transferencia a los almacenes citoplasmáticos, en forma de gotas lipídicas y a las cisternas de retículo endoplasmático para la síntesis de lipoproteínas ricas en triglicéridos.



1, Carnitina palmitoiltransferasa. 2, Hidroximetilglutaril-CoA sintetasa. 3, Carnitina palmitoiltransferasa. 4, Acil-CoA deshidrogenasa. 5, Hidroxibutirato deshidrogenasa. 6, Isocitrato deshidrogenasa. 7, Cetoglutarato deshidrogenasa. 8, Acetil-CoA carboxilasa. 9, Fosfatidato fosfatasa. 10, Diacilglicerol aciltransferasa. Las flechas con el trazo más grueso indican un mayor flujo por esa vía.

Está demostrado que, *in vivo*, existe una oxidación diferencial de los ácidos grasos dependiendo de la longitud de la cadena y de la insaturación. Dentro de los saturados, los de cadena más corta y dentro de los insaturados n-6, los de menor número de dobles enlaces, son los mejores substratos para la misma y a igual longitud de cadena mejor los n-3 que los n-6 (LEYTON *et al.*, 1987; SANDERS, 1988). De este modo los ácidos grasos de cadena media son metabolizados casi totalmente en el hígado (CHANEZ *et al.*, 1991; NEY, 1991; TIMMERMANN, 1992; NEY *et al.*, 1993).

Los resultados *in vivo* (BEYERS y EMKEN, 1991) o con hígado perfundido de rata (HOLMAN *et al.*, 1983; FUKUDA *et al.*, 1993), indican que las tasas de oxidación y de esterificación de los isómeros *trans* de los ácidos grasos parecen ser dependientes del número y de la posición de los dobles enlaces.

Existen evidencias de que el consumo de grasas de origen marino animal aumentan la tasa de oxidación de ácidos grasos en el hígado (HERZBERG, 1991; DAGNELIE *et al.*, 1994). En ratas alimentadas con grasas de origen marino o ricas en ácidos grasos n-3 se ha observado un aumento en el tamaño del hígado que se ha asociado con un incremento en la tasa de oxidación de los ácidos grasos n-3 (YAMAZAKI *et al.*, 1987; LOTTENBERG *et al.*, 1992; HILL *et al.*, 1993; TAKADA *et al.*, 1994) y la hepatomegalia detectada era debida a una hipertrofia (OTTO *et al.*, 1992), probablemente provocada por una proliferación de peroxisomas inducida por la dieta, por lo que el aumento de los fosfolípidos encontrado era de origen estructural (OTTO *et al.*, 1991). Posteriormente, tras un examen ultraestructural y por determinaciones morfométricas, se ha descrito un aumento en el volumen y número de peroxisomas y mitocondrias en el hígado de ratas que han sido alimentadas con altas relaciones n-3/n-6 de ácidos grasos en la dieta (VAMEQC *et al.*, 1993). Además, se ha caracterizado un gen que, al ser inducido, aumenta la cantidad de peroxisomas en el hígado. Se ha sugerido que ciertos ácidos grasos, probablemente los de origen marino, sean inductores de la transcripción de este gen (NORUM, 1992).

Se ha comprobado que las dietas ricas en ácidos grasos n-3 aumentan la β -oxidación en los peroxisomas hepáticos frente a las ricas en aceite de girasol o de coco (YAMAZAKI *et al.*, 1987), pero no tienen efecto sobre la β -oxidación mitocondrial (MOHAN *et al.*, 1991; RUSTAN *et al.*, 1992). Otros investigadores muestran, en ratas alimentadas con aceite de pescado, una activación no

significativa de la β -oxidación mitocondrial y un aumento significativo de la β -oxidación peroxisomal, cuando se comparan con ratas alimentadas con aceite de girasol o de palma (HALMINSKI *et al.*, 1991). Similares resultados pero en ambos casos significativos, han sido observado en ratas alimentadas con aceite de pescado o con suplementos de poliinsaturados de la serie n-3 frente a ratas alimentadas con una dieta estándar o rica en aceite de oliva (GRØNN *et al.*, 1992). Lo contrario ha sido mostrado alimentando a hamsters y ratas con bajas cantidades de ácidos grasos n-3 en la dieta, donde se detectó un incremento de la actividad de la carnitina palmitoiltransferasa, lo que indica un aumento de la β -oxidación mitocondrial, que además estuvo relacionado con una disminución en la capacidad de síntesis y secreción de triglicéridos por el hígado (SURETTE *et al.*, 1992; WILLUMSEN *et al.*, 1993). También han sido detectados incrementos de la actividad de la carnitina palmitoiltransferasa y de la β -oxidación peroxisomal en ratas alimentadas con dietas enriquecidas con ácido γ -linolénico (TAKADA *et al.*, 1994).

Esta bien establecido que la ingesta de altas cantidades de grasas (NEAT *et al.*, 1980; NILLSON *et al.*, 1984); o dietas con grasas parcialmente hidrogenadas de origen vegetal (THOMASSEN *et al.*, 1982) o de origen marino animal (NEAT *et al.*, 1980) inducen a una proliferación de peroxisomas en el hígado, y un aumento de la β -oxidación en los mismos. Uno de los mecanismos propuestos para esta inducción implica un aumento en la trascricpción produciendo un incremento en las tasas de síntesis de los ARN_m específicos de los enzimas clave implicados de este proceso (FLATMARK *et al.*, 1988; OSMUNDSEN *et al.*, 1991).

Se ha comprobado que las tasas de β -oxidación de los ácidos grasos *trans*, en los peroxisomas pueden llegar a ser mucho más rápidas que las de sus correspondientes isómeros *cis*, hecho que no sucede con la β -oxidación mitocondrial, donde los ácidos grasos *cis* son oxidados a tasas mucho mayores que los isómeros *trans* (NEAT *et al.*, 1980; HOLMAN, 1983). Y se ha comprobado que la activación en acil-CoA, previa a la oxidación, de los isómeros *trans* sucede a tasas más rápidas que sus correspondientes isómeros *cis* (ENTRESSANGLES, 1986).

Además de jugar un papel muy importante en los procesos que componen el metabolismo xenobiótico y como componente principal de la función detoxificadora del hígado de compuestos pobremente metabolizables, como por

ejemplo, la oxidación del colesterol y su transformación en ácidos y sales biliares que posteriormente serán excretados en la bilis, el posible papel metabólico de la β -oxidación peroxisomal podría ser de apoyo a la β -oxidación mitocondrial. Ello sería importante por un lado, cuando al hígado llega un gran flujo de ácidos grasos, por ejemplo, una alta ingesta de grasa, y, por otro lado, cuando la dieta contenga cantidades de sustratos que vayan a ser escasamente oxidados en la mitocondria, el caso de los ácidos grasos *trans* y de ácidos grasos de cadena muy larga. En los peroxisomas pueden ser totalmente oxidados y/o acortados los ácidos grasos; y posteriormente los productos de este acortamiento pueden ser sustratos de la β -oxidación mitocondrial o esterificados. (EMKEN, 1984; HØLMER y RØNNEBERG, 1986; RØNNEBERG *et al.*, 1987; CHRISTENSEN *et al.*, 1989; SCHULZ, 1991; OSMUNDSEN *et al.*, 1991; NELSON, 1992; GUZMAN y GEELLEN, 1993; WILLUMSEN *et al.*, 1993a).

Pero una hiperactividad de la β -oxidación en los peroxisomas podría traer consecuencias negativas. El tipo de ácido graso que está siendo oxidado puede predisponer al ambiente celular a un potencial daño por estrés oxidativo, debido a un incremento de peróxido de hidrógeno que se puede producir, durante este proceso (HORNSTRA, 1989; NORUM *et al.*, 1989; SCHRIJVER *et al.*, 1992; BRUCNER, 1992).

2.4.-INFLUENCIA DE DIFERENTES NUTRIENTES SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO DEL PLASMA

2.4.1.- INFLUENCIA DE LOS GLÚCIDOS

Varios componentes de la dieta pueden influir en la concentración de lípidos plasmáticos (SCHROEDER y BALASSA, 1965; STAUB *et al.*, 1969; LEWIS, 1976; STORY y KRITCHEVSKY, 1976; SRINIVASAN *et al.*, 1988), entre ellos están las proteínas (STEWART *et al.*, 1987) y la cantidad y tipo o calidad de lípidos y glúcidos (HØSTMARK *et al.*, 1982b). Además, estos últimos también pueden influir en la composición y metabolismo de las lipoproteínas (LITTLE *et al.*, 1979; REISER *et al.*, 1981). Por otra parte, la duración de la ingesta de carbohidratos, el estado nutricional también afectan el grado de elevación de los triglicéridos del plasma (HIRANO *et al.*, 1988). En la rata el 50% de los requerimientos lipídicos de energía del tejido muscular son transportados en forma de VLDL (GIBBONS, 1990).

La concentración plasmática de los lípidos (HORIGOME y CHO, 1992), así como la secreción hepática de los mismos, puede estar afectada por la proteína de la dieta (SUGANO *et al.*, 1988), por los carbohidratos (HERZBERG, 1991) o por la interacción de ambos (PFEUFFER y BARTH, 1992), al igual que por la acción sinérgica entre la grasa y la proteína de la dieta (BERGERON *et al.*, 1991). Se sabe que la secreción de triglicéridos y colesterol es incrementada por la sacarosa de la dieta cuando se compara con almidón o con una dieta no purificada (YAMAMOTO, 1987) y es mayor con fructosa que con glucosa (HERZBERG y ROGERSON, 1988). La concentración plasmática de colesterol y triglicéridos fue mayor en las ratas alimentadas con fructosa que con glucosa, en cuatro razas de ratas (AOYAMA *et al.*, 1987) o en ratas alimentadas con dietas ricas en almidones nativos frente a otras alimentadas con almidones con altas proporciones en amilosas (MATHÉ *et al.*, 1993).

En rata, alimentada con una dieta rica en sacarosa, se ha observado un incremento de la cantidad de colesterol y de triglicéridos del plasma (PORTMAN *et al.*, 1956; HERMAN *et al.*, 1970; MANN *et al.*, 1971; CRYER *et al.*, 1974; HØSTMARK *et al.*, 1979; HØSTMARK y GRONNEROD, 1979) y de los fosfolípidos (HAUG *et al.*, 1985), aunque en otros estudios dichos efectos no fueron observados (MANN y TRUSWELL, 1972; YUDKIN, 1972;

ABRAHAMSON *et al.*, 1974) y para otros es dudosa la influencia del carbohidrato de la dieta, (almidón o sacarosa), sobre los lípidos del suero o sobre las lipoproteínas (BIERMAN, 1979). Sin embargo, dietas ricas en sacarosa o fructosa se muestran como causantes de hiperlipidemias cuando se las compara con las ricas en glucosa o almidón (MacDONALD, 1973). Cierta número de estudios indican que, en rata, el consumo de sacarosa cuando se compara con glucosa, aumenta la concentración plasmática de triglicéridos, colesterol libre, colesterol esterificado y apolipoproteínas (SZEPESI, 1992).

Por otra parte, el que la sustitución de sacarosa por almidón en la dieta pueda inducir una elevación de triglicéridos en plasma, podría estar asociado a una diferencia en el porcentaje de absorción o a la presencia de fructosa en la sacarosa (KAZUMI *et al.*, 1986), debido a la mayor conversión de fructosa a ácidos grasos, lo cual aumenta la síntesis de éstos (MAROHAMA y MacDONALD, 1972; ROMSOS y LEVEILLE, 1974; HERZBEG y ROGERSON, 1982) e incrementa el porcentaje de secreción de triglicéridos hepáticos, sin cambios en la actividad lipoproteinlipasa en ratas (ZAVARONI *et al.*, 1982; HERZBERG y ROGERSON, 1988a, 1992) y humanos (COHEN y SCHALL, 1988).

Cuando el glúcido se administra en el agua, la suplementación con sacarosa condujo a hipertrigliceridemia en ratas y en humanos (NIKKILA y OJALA, 1965; LITTLE *et al.*, 1979; ZAVARONI *et al.*, 1982; HALLFRISCH *et al.*, 1983) posiblemente como consecuencia de la fructosa del disacárido más que de la glucosa (REISER *et al.*, 1979), ya que grupos suplementados con fructosa condujeron a un marcado incremento en la concentración de triglicéridos del suero, mientras que los grupos suplementados con glucosa presentaron menor efecto, ocupando una posición intermedia aquellos animales que consumían sacarosa.

Parte de la diferencia en el efecto de estos azúcares sobre el nivel de triglicéridos podría ser debido a su efecto sobre la producción de triglicéridos circulantes, pues se ha demostrado que, en los grupos suplementados con sacarosa, aumentan el tamaño y número de partículas de lipoproteínas ricas en triglicéridos. Sin embargo, los efectos de la fructosa sobre la síntesis de apolipoproteínas y sobre las partículas lipoproteicas no son bien conocidos (KAZUMI *et al.*, 1986), ni tampoco las razones por las que la fructosa induce aumento de la secreción de triglicéridos.

Utilizando el coeficiente respiratorio, HIGGINS en 1916 mostró que la fructosa es más fácilmente convertible en grasa que la glucosa, mostrándose capaz de inducir un cierto número de enzimas lipogénicos en rata (HERZBEG y ROGERSON, 1982; SPENCE y PITOT, 1982; SZEPESEI, 1992). Las diferencias en las cantidades de sustratos lipogénicos disponibles para el hígado podrían explicar los distintos impactos de glucosa y fructosa sobre la producción de triglicéridos. En humanos, (RADZIUK *et al.*, en 1978) se ha mostrado que solamente una pequeña cantidad de glucosa ingerida oralmente es captada por el hígado, la mayor parte es conducida presumiblemente a tejidos extrahepáticos. Aunque experimentos similares no han sido realizados con fructosa, se sabe que el hígado es el sitio de mayor captación de fructosa (BJORKMAN y FELIG, 1982). Además, hay evidencias de que, a las ratas a las que se les suministró ¹⁴C-fructosa o ¹⁴C-glucosa intragástricamente, podrían incorporar más del primer isótopo en el hígado y triglicéridos circulantes (MAROHAMA y MacDONALD, 1972). Así, se puede esperar que en comparación con la glucosa, la fructosa podría aportar más sustrato para ácidos grasos y síntesis de glicerol-glicéridos.

La hipertrigliceridemia debida a la sacarosa o la fructosa de la dieta, se ha observado en varios estudios (WU *et al.*, 1974; REISER *et al.*, 1979, 1981; ELLWOOD y MICHAELIS, 1980; AOYAMA *et al.*, 1980, 1987; ZAVARONI *et al.*, 1981; DESHAIES *et al.*, 1984; HAUG *et al.*, 1985; ELLWOOD *et al.*, 1991; TRUSWELL, 1994). Ésta ha sido explicada por un incremento en la formación de triglicéridos en el hígado (TOPPING y MAYES, 1982), junto con una elevación en la secreción de triglicéridos transportados como VLDL (LITTLE *et al.*, 1979; ZAVARONI *et al.*, 1981; HERZBERG y ROGERSON, 1988a, 1992). Una menor eliminación de triglicéridos de la circulación debido a una disminución de la actividad lipoproteinlipasa en el tejido adiposo puede ser también responsable de este estado (DESHAIES *et al.*, 1984). Sin embargo, este autor y otros, en posteriores trabajos, observaron que la hipertrigliceridemia inducida por fructosa no era debida a cambios en la actividad de la lipoproteinlipasa en el tejido adiposo (HERZBERG y ROGERSON, 1988; DESHAIES, 1986). Otras publicaciones tienden a apoyar la primera idea. Así, BASILICO *et al.* (1983) encontraron disminuida la actividad lipoproteinlipasa, triglicérido lipasa hepática y monoglicérido hidrolasa en el plasma postheparinizado de rata alimentada con dieta rica en sacarosa. En otros estudios, comparando los efectos de varios tipos de carbohidratos, la sacarosa (CRYER *et*

al., 1974) y la fructosa (AOYAMA *et al.*, 1980) produjeron una menor actividad lipoproteinlipasa en tejido adiposo que la glucosa o almidón (BRUCKDORFER *et al.*, 1972). Aunque, en recientes estudios no se han encontrado diferencias en la actividad de la lipoproteinlipasa del tejido adiposo, entre ratas alimentadas con dietas ricas en fructosa o glucosa. Se sugiere, como posibilidad, que variaciones en la actividad de la lipoproteinlipasa se pueden dar en otros tejidos además del estudiado (HERZBERG y ROGERSON, 1992). Se conoce que la actividad de este enzima varía con el sexo, siendo mayor en hembras que en machos; entre los distintos tejidos, con los estados y los tratamientos nutricionales, la actividad en el tejido adiposo es mayor en animales alimentados dietas ricas en glúcidos y es menor en el músculo y el tejido cardíaco de ratas alimentadas con dietas ricas en carbohidratos cuando se comparan con animales en ayuno (BALTZELL *et al.*, 1991), llegando incluso, a tener una actividad recíproca entre tejidos diferentes (ENERBÄCK y GIMBLE, 1993; ERSKINE *et al.*, 1994), dependiendo de las demandas metabólicas individualizadas de cada uno de ellos (BRAUN y SEVERSON, 1992). Se ha observado que, cuando en la dieta se sustituye la grasa por carbohidratos, la actividad del enzima lipoproteinlipasa disminuye (BEYNEN y KATAN, 1989).

La fructosa también interfiere la eliminación de triglicéridos circulantes en humanos (GRANT *et al.*, 1994) y en rata (KAZUMI *et al.*, 1986), probablemente por un defecto en el catabolismo de las lipoproteínas de muy baja densidad (HIRANO *et al.*, 1988) mediante dos mecanismos. Primero, como consecuencia de modificaciones físicas (partículas de mayor tamaño) (KAZUMI *et al.*, 1986) y químicas (distinta proporción entre las apoproteínas E y C de la lipoproteína), la captación mediada por el receptor podría estar reducida. Segundo, la ingesta crónica de fructosa altera la fisiología de la rata, de manera que reduce su capacidad de extraer las VLDL plasmáticas, por tener una menor actividad de las lipoproteinlipasas endoteliales y de la lipasa hepática (HIRANO, *et al.*, 1989). Aunque, si una reducida actividad de la lipoproteinlipasa contribuye también a la lipemia inducida por dietas ricas en fructosa/sacarosa, no está del todo claro (TRUSWELL, 1994).

Se ha comprobado con cultivo celulares que el ácido oleico incrementa el número de lipoproteínas ricas en triglicéridos que contienen apo B, mientras que la glucosa aumenta la secreción de triglicéridos, sin afectar al número de partículas. No está claro porqué los triglicéridos derivados de la glucosa, pero no

los de oleico, son reclutados preferentemente para constituir VLDL de mayor tamaño (YAO y McLEOD, 1994).

Otros trabajos sugieren la idea de que la secreción por el hígado de rata de partículas lipoproteicas ricas en triglicéridos, que contengan apoproteína B₁₀₀ o apoproteína B₄₈, está independientemente controlada por factores nutricionales. Parece ser que las VLDL que contienen apoproteína B₄₈ son lipolisadas más rápidamente por la lipoproteínlipasa y son aclaradas del plasma a mayor velocidad (HOLDER *et al.*, 1990), por receptores que reconocen a los remanentes de quilomicrones (NAGATA *et al.*, 1988). Unas tasas altas de síntesis hepática de triglicéridos a partir de pequeños precursores, están asociadas con una mayor secreción de las VLDL con un mayor tamaño y mayor relación Apo B₄₈/Apo B₁₀₀ y viceversa (VANCE y VANCE, 1990). Se ha comprobado que la actividad de las lipoproteínlipasas periféricas mantienen una correlación positiva con el tamaño de la partícula (HAVEL, 1994); por el contrario la lipasa hepática muestra una correlación negativa. Este mecanismo podría explicar la baja cantidad de LDL en el plasma de la rata adulta donde la transformación de la lipoproteína de muy baja densidad a las de baja densidad es escasa, debido a la gran captación hepática de las primeras (FRIEDMAN *et al.*, 1990) y por el contrario, las mayores concentraciones de LDL en ratas lactantes (ERICKSON *et al.*, 1988), debido a que éstas secretan mayor cantidad de VLDL con apoproteína B₁₀₀ (GIBBONS, 1990).

Ha sido publicado que las ratas alimentadas con dietas ricas en fructosa durante un periodo corto difieren en la concentración de triglicéridos del plasma y del hígado de las que fueron tratadas de la misma forma por un periodo largo (HILL, 1969). Esto suscita la posibilidad de que los mecanismos fundamentales por los que los carbohidratos inducen hipertrigliceridemia puedan diferir dependiendo de la duración del tratamiento. Así, en tratamientos de periodo corto -16 horas- la concentración de triglicéridos en plasma fue mayor que en tratamientos de periodo largo -14 días- (HIRANO *et al.*, 1988). Esto es semejante a lo observado en humanos, donde la fructosa (y no el almidón) produce una hipertrigliceridemia a corto plazo, pero la cantidad de colesterol LDL fue mayor a largo plazo -28 días- (SWANSON *et al.*, 1992).

La regulación dietaria de la concentración de lípidos plasmáticos parece ser muy compleja. La dieta no solamente puede tener efectos pronunciados sobre la concentración de lípidos del plasma, sino también sobre la composición

lipoproteica (HOSTMARK y ASKEVOLD, 1978). Además, en la rata, la distribución lipoproteica refleja más consistentemente los efectos dietarios sobre el metabolismo lipídico en el plasma que la concentración de triglicéridos y colesterol total (HOSTMARK *et al.*, 1978).

De cualquier modo, los efectos de los carbohidratos dietarios sobre las lipoproteínas del plasma, síntesis hepática o catabolismo en tejidos periféricos e hígado, así como en los procesos de absorción y digestión, no son del todo conocidos (HOSTMARK *et al.*, 1982b).

La secreción de las VLDL se ve incrementada tomando sacarosa (ZAVARONI *et al.*, 1981), observándose también que aumenta colesterol y las HDL (HOSTMARK *et al.*, 1982b; DESHAIES *et al.*, 1983). De igual manera, la cantidad de apoproteína asociada con la fracción VLDL+quilomicrones, así como la propia fracción, son mayores en las ratas alimentadas con sacarosa o fructosa que con almidón, sin embargo la apoproteína asociada a las fracciones HDL y LDL y las fracciones son independientes del tipo de glúcido suministrado (ELLWOOD *et al.*, 1991).

La concentración de HDL podría estar relacionada con el catabolismo de VLDL por la lipoproteinlipasa (DESHAIES *et al.*, 1983; NORUM *et al.*, 1983; EISENBERG, 1984; NORUM, 1992).

La HDL del plasma de rata consta, al menos, de dos subgrupos, HDL₂ y HDL₃ (JANSEN *et al.*, 1980; VAN TOL *et al.*, 1980; NIKKILA *et al.*, 1982) y se ha sugerido que, durante la ruptura catalizada por la lipoproteinlipasa de lipoproteínas ricas en triglicéridos, se produce HDL₂ a partir de HDL₃. Durante este proceso, parte de los componentes de VLDL y de los quilomicrones son absorbidos por HDL₃, formándose HDL₂ menos densas (PATSCHE *et al.*, 1978). Esta relación ha sido apoyada por estudios humanos *in vivo* (NIKKILA *et al.*, 1978; TASKINEN y NIKKILA, 1981). Evidencias directas, *in vivo*, de la conversión de HDL₃ en HDL₂ fueron obtenidas por EISENBERG (1984), quien mostró que las HDL₃ humanas inyectadas a rata se convirtió en HDL₂.

Se especula que los incrementos en la formación de HDL₂ podrían ser un mecanismo para contrarrestar la acumulación de colesterol (HOSTMARK *et al.*, 1982a), ya que la HDL₂ podría servir como un transportador de colesterol desde los tejidos periféricos al hígado (KOELZ *et al.*, 1982; NIKKILA *et al.*, 1984), donde el colesterol es tomado y excretado en la bilis, junto con los ácidos biliares (HAUG *et al.*, 1985). De acuerdo con lo anterior, QUARFORDT *et al.*, (1980)

publicaron que la HDL rica en apo E (HDL₂) fue captada por el hígado de rata en mayor cantidad que la HDL rica en apo A (HDL₃). Se ha sugerido que HDL₂, después de liberar el colesterol en el hígado, es reconvertida en HDL₃ (NIKKILA *et al.*, 1982). La hipótesis de que la HDL₂ es transformada en HDL₃ como resultado de la lipasa hepática (JANSEN *et al.*, 1980; NIKKILA *et al.*, 1980) fue puesta en duda por KINNUNEN *et al.*, (1983), ya que experimentos *in vitro* mostraron una disponibilidad limitada de dicha enzima para utilizar la HDL₂ como sustrato.

La distribución de los subgrupos de las HDL del plasma puede ser apreciablemente influida por la alteración de la dieta, sin que varíe la cantidad de HDL total (HOSTMARK *et al.*, 1982a). Así, la excesiva ingesta de carbohidratos acelera el catabolismo de las HDL (KASHIMOTO *et al.*, 1986) y se ha comprobado que la dieta con sacarosa incrementan los niveles de las HDL₂ (HOSTMARK *et al.*, 1979; HOSTMARK y GRONNEROD, 1979; MERKENS *et al.*, 1980; HAUG *et al.*, 1895) y que los ésteres de colesterol, la proteína, los fosfolípidos, los triglicéridos y el colesterol no esterificado transportados principalmente en estas HDL₂, están más elevados en animales alimentados con dietas ricas en sacarosa (HAUG *et al.*, 1985). Además, esta comprobado que la proporción molar colesterol/fosfolípidos en la HDL es un factor determinante de que ésta sea una partícula aceptora o donante de colesterol (JOHNSON *et al.*, 1991).

Por otra parte, los incrementos en la relación HDL₂/HDL₃ reflejan cambios paralelos en los niveles de triglicéridos totales, así como de colesterol del plasma (HOSTMARK *et al.*, 1982a). La relación inversa, publicada frecuentemente, entre HDL y triglicéridos en la especie humana (MILLER y MILLER, 1975; REISER *et al.*, 1981; HAVEL, 1994) fue observada también en ratas (MELA *et al.*, 1987), aunque no ha sido observada en otros estudios (DESHAIES *et al.*, 1983). Se ha visto que la relación HDL/colesterol total tiene una correlación negativa con los triglicéridos del suero y la fracción (VLDL + LDL) de colesterol tiene una correlación positiva con los mismos (DESHAIES *et al.*, 1983; DESHAIES, 1986).

Mientras que algunos estudios (MacDONALD, 1978; FEARS *et al.*, 1981) publican una disminución en las HDL, tomando una dieta rica en sacarosa, otros apoyan lo contrario (DESHAIES *et al.*, 1983). Por ejemplo, en sujetos sensibles a carbohidratos, REISER *et al.*, (1981) encontraron un incremento en el contenido

de colesterol en todas las fracciones lipoproteicas, incluyendo las HDL, aunque se observó una disminución en la relación HDL/colesterol total cuando la sacarosa reemplazó al almidón como fuente de carbohidratos. Sin embargo, se ha comprobado que las dietas bajas en grasa y ricas en carbohidratos disminuyen la HDL (KATAN, 1984) y aumentan los triglicéridos (MENSINK y KATAN, 1987) y que el colesterol de la LDL aumentó significativamente al tomar sacarosa (DESHAIES *et al.*, 1983). En humanos se han encontrado valores superiores de colesterol total y LDL en aquellos sujetos que consumieron fructosa frente a los que se les suministró almidón (SWANSON *et al.*, 1992) y de colesterol en la fracción plasmática rica en triglicéridos, probablemente en este último caso por un fallo en el aclaramiento de la misma (GRANT *et al.*, 1994).

A diferencia de los humanos, la rata carece de actividad plasmática de intercambio y transferencia de ésteres de colesterol entre las distintas lipoproteínas así que los ésteres de colesterol producidos en la HDL, por la acción de la lecitina colesterol aciltransferasa, son acumulados en las mismas. Este hecho podría explicar, en parte, los altos porcentajes de colesterol transportado en la HDL de la rata y la presencia de una fracción HDL enriquecida en ésteres de colesterol (NORUM *et al.*, 1983; EISENBERG, 1984; MELA *et al.*, 1987).

El aumento del consumo de glúcidos a expensas de la grasa produce disminuciones en la cantidad de la HDL, probablemente porque la producción de VLDL por el hígado es limitada y la actividad de la lipoproteinlipasa es menor; las dos acciones combinadas provocan una menor tasa de producción de material de exceso de la superficie de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, en definitiva de HDL (BEYNEN y KATAN, 1989; GRUNDY, 1990). El efecto contrario sobre la actividad del enzima podría aumentar la concentración de la HDL plasmática (WELCH Y BORLAKOGLU, 1992).

Las HDL son, en su mayoría, retiradas del plasma por el hígado que posee receptores que reconocen estas partículas. No se sabe si la partícula íntegra es captada por endocitosis mediada por receptores o si solamente le es extraído su contenido en colesterol. Además, existen escasos conocimientos de como influyen los distintos factores de la dieta sobre este proceso (NORUM, *et al.*, 1983; EISENBERG, 1984; JOHNSON *et al.*, 1991; NORUM, 1992).

Por tanto, se puede afirmar que el tipo de carbohidrato de la dieta afecta al metabolismo del colesterol en ratas (BEYNEN, 1987), influyendo en la absorción de colesterol y/o en los procesos de excreción (CADERNI *et al.*, 1993)

por alteración también de la flora intestinal (LITTLE *et al.*, 1979). El colesterol del suero es mayor en ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa que con la rica en glucosa (HERZBEG y ROGERSON, 1988) y cuando comparamos sacarosa y almidón, la sacarosa produce unas concentraciones mayores de colesterol en suero (MacDONALD, 1978; HOSTMARK *et al.*, 1979; ELLWOOD y MICHAELIS IV, 1980; REISER *et al.*, 1979; 1981; BEYNEN y LEMMENS, 1987), debido a un incremento en la síntesis y secreción por el hígado y/o disminución en la disponibilidad de colesterol. Se ha comprobado, *in vivo* y con hígado de rata perfundido, que la fructosa disminuye la secreción de colesterol biliar, aumenta la secreción de colesterol en las VLDL y no afecta a la síntesis de ácidos biliares. Todo esto refuerza el concepto de que la tasa de secreción de colesterol biliar está marcadamente influida por la disponibilidad de colesterol libre en el hepatocito. El destino del colesterol vía biliar y vía VLDL están interrelacionadas recíprocamente (DAVIS, 1988). Aunque el mecanismo por el cual la sacarosa influye en la concentración de colesterol, no está claro todavía (DESHAIES *et al.*, 1983), ya que en algunos estudios, incluyendo hombre y rata, no se observaron alteraciones en el colesterol total siguiendo la dieta rica en sacarosa (HOSTMARK y GRONNEROD, 1979; FEARS *et al.*, 1981).

La ingesta de carbohidratos podría tener efectos importantes sobre la génesis y prevención de enfermedades ateroscleróticas, afectando la constitución de HDL (KASHIMOTO *et al.*, 1986), ya que las HDL protegerían contra la enfermedad coronaria (BRENSIKE *et al.*, 1984; SCHAEFER, 1984). De cualquier forma, para el desarrollo de enfermedades coronarias son significativos el nivel y distribución de todas las lipoproteínas del plasma; así, el riesgo de enfermedad coronaria está relacionado positivamente con la concentración de colesterol total del plasma, triglicéridos y LDL, pero inversamente relacionada con el nivel de HDL (CARLSON *et al.*, 1972; MILLER y MILLER, 1975; MILLER *et al.*, 1977; CASTELLI *et al.*, 1977; GORDON *et al.*, 1977) siendo un posible marcador de protección coronaria el incremento en la relación HDL₂/HDL₃, ya que las mujeres premenopáusicas, que se ha demostrado que están relativamente protegidas frente a enfermedades ateroscleróticas, tienen una relación HDL₂/HDL₃ mayor que los hombres (CARMENA *et al.*, 1990).

Por otra parte, aunque se sabe que los factores de la dieta pueden afectar a los niveles de colesterol y triglicéridos en suero y tejidos (LOPEZ *et al.*, 1966; SCHAEFER *et al.*, 1981; KRITCHEVSKY, 1978, 1988), el tipo de dieta que

podría disminuir selectivamente las lipoproteínas aterogénicas, de modo que disminuyera el colesterol total del suero, sin bajar la HDL, no está del todo clara (MENSINK y KATAN, 1987).

En plasma de rata los valores normales de lípidos plasmáticos que aparecen en la bibliografía son muy variados, quizás debido a que se han obtenido en distintas estirpes y, con frecuencia, no se especifica la edad de los animales, lo cual se sabe que influye sobre el nivel de lípidos plasmáticos. Incluso, a veces, no se especifica la dieta que se ha suministrado a los animales, así los valores encontrados son: Triglicéridos: 74,3 mg/dl, 40-60 mg/dl, 55-115 mg/dl; fosfolípidos: 70,6 mg/dl, 70-125 mg/dl, 58-107 mg/dl; colesterol total: 50 ± 10.5 mg/dl, 40-65 mg/dl, 35-50 mg/dl; HDL-colesterol: $41,8 \pm 9,5$ mg/dl, 24,05 mg/dl, 43 ± 4 mg/dl (SCHETTLER y NÜSSEL, 1975; TAKAYAMA *et al.*, 1977; ERICKSON *et al.*, 1988; BOLANT *et al.*, 1989, 1990).

En relación a que algunos autores indican, que distintos glúcidos de la dieta pueden afectar a las concentraciones plasmáticas de ácido úrico, hemos creído oportuno mencionar el posible mecanismo que opera en este proceso. Determinados trabajos sugieren un posible aumento de la concentración de ácido úrico tras la ingestión de grandes cantidades de sacarosa o fructosa que se traduce, entre otros efectos, en un incremento de la uricemia, debido a una reducción de la cantidad ATP en los hepatocitos, por la rápida fosforilación de la fructosa, que podría conducir, incluso, a la disminución de las tasas biosintéticas del hígado, incluyendo a la síntesis proteica. El aumento del ácido úrico plasmático se debería al catabolismo del AMP generado por la rotura del ATP (LINDER, 1991).

Los estudios de alimentación crónica de fructosa en humanos presentan resultados confusos (ISRAEL *et al.*, 1983). En trabajos con ratas alimentadas crónicamente con fructosa, no produjeron ninguna variación en la uricemia (FERGUSON y KOSKI, 1990). En otro estudio se observó un aumento de la concentración de ATP en el hígado, indicando este hecho un posible mecanismo adaptativo para prevenir el descenso de ATP y el consecuente aumento de ácido úrico (ROMSOS y LEVILLE, 1974). En estudios en ratas, con cargas orales de fructosa, tampoco se han observado cambios significativos en la concentración plasmática de ácido úrico, coincidente con la ausencia de variaciones en la relación ATP/AMP en el hígado (NIEWOEHNER *et al.*, 1984).

Las diversas alteraciones producidas por la fructosa han sido descritas a

partir de estudios en los que se administró ésta parenteralmente, probablemente debidas a la gran cantidad de fructosa que llega al hígado al ser suministrada de este modo, puesto que los efectos metabólicos de la fructosa son dependientes de la concentración (UUSITUPA, 1994; NIEWOEHNER, 1986).

En plasma de rata los valores normales plasmáticos de ácido úrico que aparecen en la bibliografía, son : 0,5-3,4 mg/100ml (BOLANT *et al.*, 1989), $1,88 \pm 0,07$ mg/100ml (NIEWOEHNER, 1986), $1,9 \pm 1$ mg/100ml (FERGUSSON y KOSKI, 1990).

2.4.2.- INFLUENCIA DE LOS LÍPIDOS

Se ha descrito ampliamente que la grasa de la dieta tiene profundos efectos sobre la concentración plasmática de los lípidos y de las lipoproteínas. Consecuentemente, la bibliografía sobre este tema es muy extensa. Todo ello debido a que existe un gran interés, tanto por parte de la comunidad científica, como por parte del público en general, motivado por el conocimiento de que las lipoproteínas y los lípidos del plasma están íntimamente relacionados con las patologías cardiovasculares.

De modo general, se puede afirmar que la adición de colesterol a las dietas de casi todas las especies de animales de experimentación y del hombre produce una elevación de la concentración de colesterol plasmático. En esencia, el tipo y la cantidad de grasa de la dieta influyen de modo similar en los animales de experimentación y el ser humano, en la concentración de colesterol sérico total (BEYNEN y KATAN, 1989).

Existen diferencias interespecíficas entre muchas especies animales y el hombre. Así, el conejo y muchas especies de monos son particularmente sensibles al colesterol de la dieta. La rata es relativamente insensible (LAGROST y BARTER, 1991; WELCH y BORLAKOGLU, 1992) y para detectar algún efecto ha sido necesario añadir cantidades extremas de colesterol a la dieta en combinación con ácidos biliares, ácido cólico, con objeto de aumentar la absorción del mismo (3,5-14 mg/día/kg en dietas experimentales de humanos frente a 250 mg/día/kg en animales de experimentación) (GURR *et al.*, 1989).

Por otro lado, el grado en que aumenta el colesterol sérico, tras una carga importante de colesterol en la dieta de animales de experimentación, va a depender también de la flexibilidad de los mecanismos compensatorios de la homeostasis del colesterol, como son un aumento en la excreción de bilis y esteroides neutros, la depresión de la síntesis hepática de colesterol y la eficacia de la absorción del mismo. Se conoce que hay diferencias en términos cualitativos y cuantitativos en la flexibilidad de estos mecanismos compensatorios entre las diferentes especies, incluyendo al hombre (BEYNEN y KATAN, 1989).

Además, los efectos de la dieta sobre el colesterol sérico en algunos animales de experimentación y el hombre difieren cuantitativamente y, en ocasiones, también cualitativamente. Por lo que los datos de ciertos animales, entre ellos la rata, no pueden ser usados fácilmente para valorar el impacto de la

dieta sobre el colesterol plasmático y extrapolarlo a lo humano (MEIJER y BEYNEN, 1988).

Este hecho es especialmente cierto cuando se trata de ver los efectos de la dieta sobre las lipoproteínas séricas individualmente, debido a que, excepto la cobaya, el cerdo y unos pocos primates no humanos, que mantienen similitudes con el ser humano, la mayoría de los animales de experimentación, como son el conejo, el gato doméstico, gran parte de los carnívoros, muchos primates no humanos y, en especial, la rata, difieren enormemente del hombre en lo que respecta a la composición lipoproteica y a la distribución del colesterol entre las lipoproteínas plasmáticas. También se ha detectado la aparición de lipoproteínas anormales o inusuales, la HDL_c y la β -VLDL, cuando se usan cantidades excesivas de colesterol en las dietas experimentales con animales, de las que en humanos, tras una ingesta de colesterol, no existen evidencias sólidas de su formación e incluso hay controversia de su existencia (NORUM *et al.*, 1983; STEINBERG *et al.*, 1989; GURR *et al.*, 1989; BEYNEN y KATAN, 1989; JOHNSON *et al.*, 1991).

Otros factores no dietéticos que también afectan a la concentración y al perfil de las lipoproteínas son factores genéticos que, por una parte, pueden determinar desórdenes o aberraciones metabólicas y, como consecuencia, se producen grandes modificaciones en los lípidos y lipoproteínas plasmáticas, y, por la otra parte, determinan el tipo de respuesta individual frente a los agentes dietéticos, originando individuos hipersensibles o hiposensibles. La edad es otro de los factores que se sabe que afecta a la distribución y cantidad de los lípidos y de las lipoproteínas plasmáticas. Las hormonas sexuales (y/o el sexo) producen también marcados efectos sobre el metabolismo de las lipoproteínas y de los lípidos del plasma (PATSCHE *et al.*, 1980; CHOI *et al.*, 1987, 1988, 1989; BEYNEN y KATAN, 1989; GURR *et al.*, 1989; WELCH y BORLAKOGLU, 1992).

Está firmemente aceptado que el consumo de grasas saturadas produce una elevación del colesterol plasmático, y el de grasas poliinsaturadas una disminución del mismo. El efecto colesterolémico de las grasas saturadas, cuando se compara con las poliinsaturadas, va a depender también de la cantidad absoluta de grasa en la dieta y del contenido de colesterol de la misma (CONNOR *et al.*, 1986).

De esta manera, cuando se reduce la ingesta calórica de grasa de la dieta, se obtienen las menores concentraciones de colesterol en el plasma,

independientemente del tipo de ácido graso que se reduzca; e individuos que consumen dietas con poca cantidad de grasa, tendrán unas colesterolemias menores, que si consumen dietas ricas en grasas, independientemente del tipo que sea ésta (NELSON, 1992; LIN *et al.*, 1992).

Estudios epidemiológicos indican que existen tres factores que determinan los valores de la relación HDL/colesterol total: la proporción de energía de la grasa saturada de la dieta, que aumenta los valores de colesterol total; la proporción de la energía de la grasa total dietaria, que aumenta las concentraciones de la HDL; y el exceso de energía total, que conduce a disminuciones de la HDL (KNUIMAN *et al.*, 1987).

En los últimos años distintos investigadores han reexaminado los efectos de la grasas saturadas sobre el colesterol y las lipoproteínas séricas, revelando más detalles sobre su respuesta.

Cuando se ingieren en cantidades similares, los ácidos grasos saturados son más efectivos en aumentar la cantidad de LDL plasmática, que los insaturados en reducirla (SPADY *et al.*, 1993). Los ácidos grasos de longitud de cadena menor a 12 átomos de carbono y las grasas ricas en triglicéridos de cadena media y corta, tienen poca influencia sobre el colesterol total y la LDL plasmática (NEY, 1991; PAGE, 1993).

Los efectos de la grasa saturada sobre la colesterolemia han sido observados solamente en el consumo de grasas ricas en ácidos grasos saturados de 12, 14 y 16 átomos de carbono (láurico, mirístico y palmítico); todos ellos aumentan la concentración plasmática de colesterol total, principalmente por un incremento de la lipoproteína de baja densidad más que de las lipoproteínas de alta densidad, teniendo el láurico y mirístico una acción mayor que el palmítico en situaciones de normocolesterolemia y bajas ingestas de colesterol (DUPONT *et al.*, 1991; ULBRICHT y SOUTHGATE, 1991; HAYES y KHOSLA, 1992; MARDLAW y INSEL, 1993; SUNDRAM *et al.*, 1994).

El efecto del palmítico puede variar en función de la cantidad de colesterol de la dieta y de la colesterolemia. Así, con ingestas de colesterol bajas y normocolesterolemias, el ácido palmítico no parece tener efecto sobre el colesterol del plasma. Sin embargo, cuando existe una colesterolemia alta y el consumo de colesterol también lo es, el ácido palmítico es, incluso, más responsable que el mirístico del gran incremento del colesterol plasmático, entre otras razones porque es de diez a doce veces más abundante en la dieta que el que este último (HAYES

y KHOSLA, 1992). Recientemente estos autores (KHOSLA y HAYES, 1993) han demostrado que el ácido palmítico y el oleico ejercen el mismo efecto sobre el metabolismo de la LDL, en situaciones donde la actividad de los receptores para la misma no está comprometida y la ingesta de grasa es modesta (33% de la ingesta calórica). Cuando la actividad de estos receptores se ve disminuida, el palmítico parece ser hipercolesterolémico debido a una menor tasa de aclaramiento plasmático de la lipoproteína.

Aunque sobre la acción del ácido esteárico existe controversia, en lo que sí hay coincidencia de opinión, es en que es menos hipercolesterolemizante que el resto de los saturados que lo son, y/o ejerce una acción neutra sobre la cantidad de colesterol plasmático (NELSON, 1992; THOLSTRUP *et al.*, 1994). Algunos autores le asignan incluso una acción hipocolesterolemizante cuando sustituye al palmítico, similar a la del ácido oleico, probablemente por su rápida conversión a oleico *in vivo* (BONANOME y GRUNDY, 1988; GURR *et al.*, 1989). Pero respecto a este último hecho, los datos de otros investigadores, utilizando ratas alimentadas con dietas ricas en ácido esteárico a distintas proporciones y de diferentes fuentes (manteca de cerdo, sebo de vaca y aceite de coco), no indican que sea la acción de la Δ -9-desaturasa hepática la razón de su efecto hipocolesteremizante. Estos mismos estudios sugieren que las diferencias estereoespecíficas en la estructura de los triglicéridos de grasas ricas en esteárico (MONSMA y NEY, 1993) u otro tipo de grasas (GURR *et al.*, 1989; KRITCHEVSKY *et al.*, 1990; WELCH y BORLAKOGLU, 1992) afectan de distinto modo a los procesos de absorción, disminuyendo sus tasas.

Otros trabajos apoyan para el ácido esteárico la idea que induce a un estado menos trombogénico que los ácidos láurico, mirístico y palmítico (THOLSTRUP *et al.*, 1994) o una acción no trombogénica (MUSTAD *et al.*, 1993), no compartido por otros (ULBRICHT y SOUTHGATE, 1991), e hipocolesteremizante. Pero sugieren que todavía no se comprenden completamente los mecanismos que expliquen los efectos del ácido esteárico sobre el descenso de la LDL y del colesterol total plasmáticos, considerado único dentro de los ácidos grasos saturados (KRIS-ETHERTON *et al.*, 1993; KRIS-ETHERTON, 1993; DERR *et al.*, 1993).

Las grasas con altas proporciones en ácidos grasos monoinsaturados, principalmente en ácido oleico, se pensaba que ejercían una acción ecléctica sobre el colesterol sérico, pero recientes trabajos sugieren que pueden ser tan efectivos

en disminuir el colesterol plasmático como las grasas ricas en ácidos grasos poliinsaturados, cuando se sustituyen por grasa saturada (MATTSON y GRUNDY, 1985; NORUM, 1992; WELCH y BORLAKOGLU, 1992).

El mismo nivel de disminución de colesterol plasmático se consigue, sustituyendo grasas saturadas por monoinsaturadas, que eliminando la grasa saturada en la dieta. La sustitución con grasa poliinsaturada produce mayores disminuciones en las concentraciones de colesterol que las esperadas por la ausencia de grasas saturadas en la dieta. Además algunos autores han mostrado que el ácido oleico tiene un efecto hipocolesteremiante similar al del ácido linoleico, aunque este efecto todavía está siendo cuestionado (GURR *et al.*, 1989; NELSON, 1992) y ciertos autores siguen enfatizando su efecto neutro sobre el colesterol, en individuos (animales y humanos) con cantidades de colesterol sérico normales (HAYES y KHOSLA, 1992). Ha sido demostrado en un estudio, en el que alimentaron ratas Sprage-Dawley con diferentes tipos de aceites que los aceites ricos en poliinsaturados de la serie n-3, disminuyen las concentraciones de lípidos y lipoproteínas del suero de forma más acentuada que los aceites ricos en poliinsaturados n-6 o en monoinsaturados (aceite de oliva a proporciones del 5% y 10% en la dieta y con un contenido en ácido oleico de 78g/100g), comparados con una grasa saturada. Estos autores piensan incluso que estos resultados no deben ser extrapolados a otras especies animales (STANGL *et al.*, 1994).

La opinión sobre si las grasas ricas en monoinsaturados pueden disminuir significativamente el contenido de lípidos plasmáticos no es unánime. Existen suficientes datos acumulados que indican que no ejercen una acción neutra. Generalmente, disminuyen las concentraciones de lípidos séricos, pero el nivel de este descenso es variable (WOOD, 1992).

Cuando se compara el efecto de la sustitución de grasa saturada por una rica en monoinsaturados, la acción hipocolesteremiante de los monoinsaturados se traduce, además de reducir la cantidad de colesterol total, en una disminución de la lipoproteínas de baja densidad y, al contrario que las grasas ricas en poliinsaturados, no disminuyen la cantidad de lipoproteínas de alta densidad, ni elevan las concentraciones de las lipoproteínas de muy baja densidad, ni la de los triglicéridos plasmáticos (MENSINK y KATAN, 1987; BEYNEN y KATAN, 1989; GURR *et al.*, 1989; RUDEL *et al.*, 1990; ULBRICHT y SOUTHGATE, 1991).

Por otro lado, grandes cantidades de ácidos grasos monoinsaturados en la

dieta pueden producir un incremento en las cantidades de algunos lípidos plasmáticos, especialmente los triglicéridos. Pero no se conoce la importancia biológica de este efecto (CHANG y HUANG, 1990).

Los ácidos grasos poliinsaturados de la familia $\omega 6$, frecuentes en aceite de semillas, se conoce que disminuyen la cantidad de colesterol total y de triglicéridos plasmáticos (BEYNEN y KATAN, 1989). Se sabe que las dietas con altas cantidades de estos ácidos grasos disminuyen la concentración de las lipoproteínas de baja densidad y también la de las lipoproteínas de alta densidad (ULBRICHT y SOUTHGATE, 1991).

Todavía existe controversia, sobre si es similar o no el poder hipocolesteremiante de los ácidos grasos monoinsaturados y de los poliinsaturados $\omega 6$ (GURR *et al.*, 1989; NELSON, 1992). Recientes trabajos en humanos apoyan que el efecto hipocolesteremiante del ácido linoleico parece ser más potente que el del oleico (KRIS-ETHERTON *et al.*, 1993).

Por otro lado, se ha estudiado que la acción del ácido linoleico en la reducción del colesterol plasmático alcanza su máximo cuando la ingesta del mismo es del 15% de las calorías totales (BEYNEN y KATAN, 1989) o de un 6% (HAYES y KHOSLA, 1992).

La hipertrigliceridemia observada en rata, tras la ingestión de grasa saturada, se debe principalmente a una mayor secreción de triglicéridos por el hígado (LAI *et al.*, 1991).

Cuando se compara el efecto sobre los triglicéridos plasmáticos, de los ácidos grasos saturados con los poliinsaturados de la serie n-6, estos últimos disminuyen la concentración sérica de los triglicéridos. Los ácidos grasos de la familia n-3 ejercen la misma acción, pero probablemente sean mucho más potentes, aunque no existen comparaciones directas que permitan concluir si los ácidos grasos $\omega 3$ son más potentes que los $\omega 6$ en producir un descenso en los mismos (BEYNEN y KATAN, 1989).

La ingesta de ácidos grasos poliinsaturados en rata, principalmente $\omega 3$, produce una disminución de los valores plasmáticos de fosfolípidos. Esta disminución probablemente sea debida a una menor formación de lipoproteínas ricas en triglicéridos (CHOI *et al.*, 1989; HØSTMARK *et al.*, 1989; ŽACK *et al.*, 1990; PARRISH *et al.*, 1991; RUSTAN *et al.*, 1992; BOURRE *et al.*, 1992; WILLUMSEN *et al.*, 1993a, 1993b). Similares resultados se obtienen con cerdos alimentados con aceite de soja o manteca, obteniéndose menores cantidades de

fosfolípidos en los primeros, al igual que el porcentaje de los mismos en la VLDL y la LDL (FAIDLEY *et al.*, 1990). Cuando se mantiene constante la proporción $\omega 3/\omega 6$, el tipo de grasa de la dieta no modifica la concentración de fosfolípidos del plasma (LEE *et al.*, 1991).

Una acción contraria se ha mostrado en ratas alimentadas con dietas ricas en ácidos grasos saturados y deficientes en ácidos grasos esenciales: se produce un aumento de los fosfolípidos plasmáticos asociado a una hipertrigliceridemia (HÜLSMANN y KORT, 1983; LEVY *et al.*, 1990). Otros investigadores no observan dicha hipertrigliceridemia (VERGROESEN, 1989).

El papel de los ácidos grasos $\omega 3$ en el descenso o aumento del colesterol plasmático es complejo. Los estudios realizados con individuos normo e hipercolesterolémicos, sobre la concentración de los lípidos y las lipoproteínas plasmáticas, configuran un claro esquema de los diferentes efectos que poseen. Tienen efectos variables sobre el colesterol y las lipoproteínas plasmáticas, dependiendo del patrón lipoproteico y del contenido de colesterol plasmático original del individuo al inicio del estudio, de la cantidad ingerida de los mismos y duración del tratamiento (HORNSTRA, 1989; NELSON, 1992). De igual modo, la respuesta a los lípidos de origen marino varía considerablemente entre las distintas especies. Como en humanos, los triglicéridos y el colesterol plasmático disminuyen en la rata, cuando grasa saturada de la dieta es sustituida por aceite de pescado (SPADY, 1993).

El consumo de cantidades modestas (3-5 g/día) de ácidos grasos $\omega 3$, produce una disminución en las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y en las VLDL, que pueden estar precedidas por un leve incremento de las lipoproteínas de baja densidad (SZTERN y HARRIS, 1991), no modifica la cantidad de lipoproteínas de alta o baja densidad o la aumentan ligeramente (FEHILY *et al.*, 1983). Al contrario, cuando son consumidos en altas cantidades, producen una mayor disminución de la trigliceridemia y hacen descender la cantidad de LDL y colesterol total (KELLY, 1991; SARDESAI, 1992). Las disminuciones en la colesterolemia se producen si ésta era ya elevada (ULBRICHT y SOUTHGATE, 1991). Aunque otros autores indican que la acción de los ácidos grasos n-3 también estaría en función de la densidad y tamaño de las partículas LDL. Las partículas LDL densas y pequeñas serían menos sensibles a la acción de los n-3. Se ha demostrado en diversos estudios, que en la mayoría de los casos, un aporte constante de ácidos grasos saturados en una dieta

enriquecida con ácidos grasos n-3, eleva las lipoproteínas de baja densidad (PAGE, 1993).

Los mecanismos por los cuales los ácidos grasos poliinsaturados n-3 reducen la cantidad de lipoproteínas de muy baja densidad, están ahora parcialmente entendidos (NELSON, 1992). Parece que suprimen la síntesis de ácidos grasos y de triglicéridos en el hígado y en el intestino, al igual que el ensamblaje y la formación de las VLDL, promueven las vías para la utilización metabólica de los ácidos grasos, inducen cambios en la composición de las bilis y existen evidencias de un aumento en el aclaramiento de las VLDL, pero sobre este último punto, la opinión no es unánime (YAMAZAKI *et al.*, 1987; DAGGY *et al.*, 1987; NORUM *et al.*, 1989; HORNSTRA, 1989; CHAUTAN *et al.*, 1990; HERZBERG, 1991; OTTO *et al.*, 1991, 1992; LOTTENBERG *et al.*, 1992; SCHRIJVER *et al.*, 1992; RUSTAN *et al.*, 1992; SURETTE *et al.*, 1992; SHEPPARD y HERZBERG, 1992; BRUCKNER, 1992; DAGNELIE *et al.*, 1994).

Respecto a las grasas hidrogenadas, fuente de isómeros *trans* entre otros isómeros de ácidos grasos, ha resurgido recientemente debido a los trabajos de MENSINK y KATAN (1990) su interés sobre el papel que tienen en el metabolismo lipídico y, específicamente, su influencia sobre el colesterol y las lipoproteínas plasmáticas.

Se considera que sus propiedades bioquímicas son intermedias entre los ácidos grasos saturados y los monoinsaturados. Suministrando en la dieta las cantidades necesarias de los ácidos grasos esenciales, no se puede esperar ningún efecto adverso (HOUTSMULLER, 1978).

El efecto hipercolesterolémico del ácido elaídico es menor que el de los ácidos láurico y mirístico (BEYNEN y KATAN, 1989). De igual manera, otros autores sitúan al ácido elaídico (C18:1 n-9 *trans*), en función de sus características físico-químicas y nutricionales, entre el ácido palmítico y el oleico. Pero en la rata, sus efectos sobre el colesterol plasmático y sus propiedades aterogénicas, lo sitúan más cerca del oleico, y, en el conejo, del palmítico (VERGROESEN, 1989).

Los resultados aportados de diversos estudios muestran que los efectos de los ácidos grasos *trans* sobre los lípidos plasmáticos son contradictorios (BEYNEN y KATAN, 1989). Los experimentos realizados en animales de experimentación y en personas, demuestran que pueden producir incrementos en

el colesterol plasmático y, en ocasiones, poseen una capacidad aterogénica similar a la de las grasas, saturadas o no. Pero sus efectos adversos no se presentan, o son minimizados, si la dieta contiene cantidades suficientes de ácido linoleico (GOTTENBOS, 1983; ENTRESSANGLES, 1986; WELCH y BORLAKOGLU, 1992; CRAIG-SCHIMTDT, 1992).

Por el contrario, la impresión general es, que los isómeros *trans* y de posición de los ácidos grasos o los aceites vegetales hidrogenados, tienen poca o ninguna influencia sobre las concentraciones de los distintos lípidos del suero, pero existe un escaso conocimiento de sus efectos (EMKEN, 1984).

En un estudio en personas, cuidadosamente controlado, comparando el efecto de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y ácidos grasos *trans*, se observó que estos últimos aumentaron la concentración de las LDL y disminuyeron la de HDL, mientras que los saturados solamente aumentaron las proporciones de la LDL, sin modificar las HDL y los monoinsaturados provocaron un menor valor en la relación entre ambas lipoproteínas. Este aumento en la relación LDL/HDL ha supuesto un cambio en la idea de que los ácidos grasos *trans* pueden no ser inocuos, debido a que pueden originar perfiles lipoproteicos compatibles con un riesgo cardiovascular (MENSINK y KATAN, 1990), recientemente estas conclusiones han sido confirmadas en otros estudios (WOOD *et al.*, 1993; WILLETT *et al.*, 1993; SIGUEL y LERMAN 1993; JUDD *et al.*, 1994). Además, en humanos se ha visto que influyen de manera distinta en la transferencia de ésteres de colesterol y triglicéridos entre las antiaterogénicas HDL y las LDL aterogénicas (BARTER *et al.*, 1990; LAGROST y BARTER, 1991; LAGROST, 1992).

El efecto hipercolesterolémico de los ácidos grasos *trans* no ha sido siempre observado, como en el caso de los resultados obtenidos en un trabajo realizado con cerdos, donde no se observaron diferencias en ninguna fracción lipoproteica tras el consumo de dietas con grasas que contenían ácidos grasos *trans* (JAUHAINEN *et al.*, 1993).

Por otro lado, aunque algunos autores no lo han observado (LICHTENSTEIN *et al.*, 1993), se ha mostrado que altas cantidades de ácidos grasos *trans* en la dieta pueden hacer aumentar los niveles de la lipoproteína (a) (NESTEL *et al.*, 1992; MENSINK *et al.*, 1992). Que es un tipo especial de LDL, la cual lleva unida a la apoproteína B₁₀₀, una glucoproteína específica, la apoproteína (a), por un puente disulfuro, que tiene una importante homología con

la secuencia aminoacídica con proteínas de la coagulación y de los sistemas fibrinolíticos, como el plasminógeno y que posee una alta capacidad aterogénica, debido a que son rápidamente captadas por los macrófagos (CHAPMAN, 1994; BRUCKERT y NGUYEN, 1993). Aunque hay que señalar que los suplementos de ácidos grasos *trans* utilizados en estos estudios superiores a los consumidos habitualmente en los países occidentales (ZIEGLER *et al.*, 1994).

Los resultados del estudio de MENSINK y KATAN han sido criticados por las altas dosis de ácidos grasos *trans* usados en el mismo, por una distribución de isómeros diferente, es decir, porque las posiciones de los dobles enlaces *trans* de los ácidos grasos empleados (C-9 > C-10 > C-11) no son los consumidos normalmente en la dieta (C-10 > C-11 > C-9); y por omisiones en las comparaciones entre las dietas de los estudios previos y las dietas experimentales, que hubieran concluido con un efecto similar entre los ácidos grasos *trans* y los saturados (HUNTER, 1992).

En vista de la ausencia en demostrar efectos nocivos para la salud y de la falta de evidencias que soporten una asociación entre el consumo de ácidos grasos *trans* y arteriosclerosis, se recomendó incluirlos junto a los ácidos grasos saturados, a pesar de que los primeros no eran hipercolesterolémicos en el hombre (SANDERS, 1988).

Otros trabajos apoyan la idea, de que la única forma de poder extraer conclusiones no sesgadas, es cuando se comparen resultados de dietas experimentales con cantidades similares de isómeros a los consumos habituales estimados. Generalmente, la cantidad utilizada de isómeros *trans* en muchos experimentos con animales y humanos, es mayor que la consumida habitualmente por la población; por lo que los resultados no pueden ser comparables. (CRAIG-SCHIMTDT, 1992).

Aunque otros autores sugieren que no suponen un riesgo para la salud, observando el bajo consumo de estos ácidos grasos entre la población (DRUCKEY *et al.*, 1985; HUNTER y APPLEWHITE, 1991; RITTER y RICHTER, 1992). Contrariamente, otros investigadores no están de acuerdo con incluirlos dentro de los monoinsaturados (WOOD, 1992), ni con los saturados, ya que no se encuentran del todo clarificados sus efectos fisiológicos; no se conocen a que dosis producen efectos indeseables en el hombre (ZEVEVBERGEN *et al.*, 1988) y no se pueden calcular adecuadamente con los datos disponibles, estimas de su consumo y pudiera ser que éste no fuese tan bajo (ENIG *et al.*,

1990).

Estudios realizados para detectar alguna relación entre el contenido de varios isómeros *trans* e isómeros de posición en el tejido adiposo y diez factores de riesgo cardiovascular, no hallaron evidencias de importantes asociaciones entre los mismos. Aunque si hubo para ciertos isómeros una débil, pero significativa, relación con alguno de los factores de riesgo, concluyendo que eran necesarios más estudios que pudieran revelar el significado de estas asociaciones y los potenciales efectos, a largo plazo, de los isómeros de los ácidos grasos sobre el sistema cardiovascular (HUDGINS *et al.*, 1991).

Recientemente, se ha observado entre la población estadounidense, que existe una correlación negativa entre las concentraciones de HDL y la ingesta de ácidos grasos *trans* y que ésta se halla positivamente relacionados con las concentraciones de LDL y la relación colesterol total/HDL. Lo que indica que los ácidos grasos *trans* pueden tener una influencia adversa sobre los lípidos del plasma, aumentando el riesgo a sufrir una cardiopatía (TROISI *et al.*, 1992; WILLETT *et al.*, 1993; ASCHERIO *et al.*, 1994; JUDD *et al.*, 1994).

Justificándose en estos hechos y en la falta de conocimientos, se ha propuesto separarlos e incluirlos en una categoría individual de ácidos grasos (PAGE, 1993). Además, se debe reexaminar el concepto de que los ácidos grasos *trans* no poseen efectos deletereos (DUPONT *et al.*, 1991). Por otra parte, algunos autores tienen sus dudas en incluirlos dentro de los factores promotores o de los factores protectores de enfermedades cardiovasculares (ULBRICHT y SOUTHGATE, 1991) y enfatizan un mayor esfuerzo en su investigación, para poder evaluar su impacto sobre la salud (GRUNDY, 1990; NELSON, 1992; JUDD *et al.*, 1994). Otros investigadores indican la urgente necesidad, de elaborar unas tablas de la composición de la grasa de los alimentos, dedicando una especial atención al papel de los ácidos grasos *trans* y recomiendan a las industrias productoras de margarinas mejorar sus productos, debido a que deben considerar el potencial riesgo para la salud de la población que puede tener su consumo (KAFATOS *et al.*, 1994).

Aunque estudios controlados en animales han demostrado que no son únicamente aterogénicos, ni son promotores de tumores (HUNTER; 1992) e, incluso, algunos isómeros conjugados del ácido linoleico se sabe que poseen propiedades anticarcinogénicas (CHIN *et al.*, 1992), sus efectos biológicos no están totalmente entendidos y existe una gran controversia (BHATHENA, 1992).

Mientras que no existan más evidencias en un sentido o en otro, y se conozcan sus repercusiones sobre la salud, algunos investigadores prefieren recomendar la disminución de su ingesta (MARDLAW y INSEL, 1993); o sustituirla por el consumo de ácido palmítico, producto natural de la biosíntesis de los ácidos grasos, a cantidades iguales de una mezcla compleja, no natural, de ácidos grasos producida por hidrogenación parcial (WOOD, 1992), debido a que éstos no se comportan de forma neutra y pueden afectar adversamente al perfil lipídico plasmático (WOOD *et al.*, 1993). Aunque en el lado opuesto, se encuentran aquellos que, con las actuales ingestas de ácidos grasos *trans*, no ven ningún riesgo claro para la salud en su consumo. Insisten en la aplicación del mayor rigor científico posible en el estudio de los efectos de los isómeros *trans* y la salud (APPLEWHITE, 1994).

Cambios en las cantidades de grasa dietaria, implican cambios en las proporciones de carbohidratos en sentido opuesto, cuando el resto de los componentes de la dieta se mantienen constantes. El impacto de la disminución de la ingesta de grasa sobre el colesterol plasmático, depende de la composición de los ácidos grasos de la grasa de la dieta y de los cambios en la composición de los ácidos grasos concomitantes con el descenso en la ingesta de grasa.

Las sustituciones de grasa saturada por carbohidratos disminuyen el colesterol sérico, pero los intercambios de grasa poliinsaturada por carbohidratos pueden no disminuirlo. Una disminución del consumo de la cantidad absoluta de grasa asociada con un aumento en la saturación de los ácidos grasos, puede causar un incremento de la concentración del colesterol plasmático. Pero, generalmente, la sustitución de grasa saturada por cantidades isocalóricas de carbohidratos conducen a una disminución de las concentraciones de LDL y HDL (BEYNEN y KATAN, 1989).

Cuando se compara el efecto de la sustitución de grasa saturada por una rica en carbohidratos complejos, se observa que, estos últimos, además de reducir la cantidad de colesterol total y la de LDL, disminuyen también la concentración de las HDL, pero aumentan la cantidad de los triglicéridos plasmáticos, fundamentalmente, por un aumento en la concentración de lipoproteínas de muy baja densidad (MENSINK y KATAN, 1987; GURR *et al.*, 1989).

Con estudios epidemiológicos y con experimentos controlados se observa que las dietas con bajos niveles de grasa y altos niveles de carbohidratos, tienden a producir menores concentraciones de colesterol total y HDL. El descenso en la

concentración de HDL puede ser debido, mayoritariamente, a una disminución de la fracción HDL₂, acompañada de una caída en la concentración de la apolipoproteína A-I (KNUIMAN *et al.*, 1988).

Cuando la relación grasa:carbohidrato de la dieta es de 0,45 o de 0,85, se producen descensos similares en las concentraciones de colesterol total y de la LDL, si la proporción en la dieta de poliinsaturados:saturados es 1. Un aumento en la relación grasa:carbohidrato de 0,45 a 0,85 produce un significativo incremento de los valores de VLDL y un descenso en los de HDL.

La reducción de la ingesta de grasa no conduce a perfiles lipoproteicos plasmáticos más favorables, si las proporciones entre poliinsaturados:saturados es 1 o alcanza valores superiores (VERGROESEN, 1989).

Las acciones que ejercen los ácidos grasos sobre los lípidos plasmáticos, pueden seguir una o más de las siguientes vías:

- Modificaciones en la excreción de ácidos biliares y colesterol.

En el hombre existen sobre este mecanismo evidencias a favor y en contra (GURR *et al.*, 1989), y los datos en animales son conflictivos (HØSTMARK *et al.*, 1989).

Algunos autores indican que los ácidos grasos saturados provocan una menor pérdida de los productos biliares. Esta acción ejercida durante periodos largos de tiempo, puede reflejar cambios en la concentración plasmática de colesterol. Los ácidos grasos poliinsaturados tienen un efecto contrario, causando que sean excretados en la bilis mayores cantidades de colesterol, fosfolípidos y esteroides neutros (CHAUTAN *et al.*, 1990; FAIDLEY *et al.*, 1990; GRUNDY, 1990; BRUCNER, 1992; WELCH y BORLAKOGLU, 1992). En la rata, los ácidos grasos *trans* parece que aumentan la excreción de esteroides fecales, sin producir modificaciones en el flujo y la concentración biliar de colesterol (SUGANO *et al.*, 1983, 1984; WATANABE *et al.*, 1984). Otros autores no observan un aumento en la excreción de bilis y/o esteroides neutros por consumo de ácidos grasos poliinsaturados, ni por ingesta de mayor cantidad de grasa variando la relación carbohidrato/grasa o la relación poliinsaturados/saturados de la dieta. Por lo que se requieren mayores evidencias experimentales para decidir el impacto de este mecanismo en relación a la grasa de la dieta (VERGROESEN, 1989; CHOI *et al.*, 1989; BEYNEN y KATAN, 1989; DUPONT *et al.*, 1991; SCHRIJVER *et al.*, 1992).

- Variaciones en la producción de colesterol y LDL por el hígado.

Los ácidos grasos saturados aumentan la producción de colesterol, probablemente por una reducción en el grado de control ejercido sobre el enzima clave de la síntesis del mismo. El efecto hipocolesterolemizante de los ácidos grasos $\omega 6$ y también para los $\omega 3$, pasa por su participación en la inhibición del enzima clave de la síntesis de colesterol (CHOI *et al.*, 1989; HORNSTRA, 1989; RIBEIRO *et al.*, 1991, 1992; LIN *et al.*, 1992). Pero muchos investigadores no están de acuerdo con esta afirmación (WELCH y BORLAKOGLU, 1992).

Existen dos teorías que compiten en explicar la disminución del colesterol sérico inducida por el consumo de ácidos grasos poliinsaturados. Una propone un mayor catabolismo de la lipoproteína de baja densidad y la otra un menor formación de las mismas.

En relación a esta última, uno de los mecanismos para alterar la cantidad de LDL es a través de la formación y secreción de VLDL y su posterior transformación en LDL, que también dependerá de las tasas de aclaramiento plasmático de las IDL (BEYNEN y KATAN, 1989; GRUNDY, 1990). Se afirma en otros trabajos que esta transformación es la única vía de producción de LDL (NORUM, 1992; SPADY, 1992), aunque sus mecanismos no están del todo clarificados (FRIEDMAN *et al.*, 1990) y está demostrado que en la rata, la grasa saturada de la dieta aumenta la cantidad de LDL debido un incremento en la tasa de formación de las mismas (SPADY, 1993).

Pero algunos investigadores proponen la existencia de otra vía de formación de LDL independiente del catabolismo de las VLDL, que ha sido denominada de síntesis, de secreción o de producción directa de LDL (SZTERN y HARRIS, 1991), observando que la saturación de la grasa de la dieta aumenta la tasa biosintética de LDL por esta vía (KHOSLA y HAYES, 1991; HAYES y KHOSLA, 1992).

El tipo de ácidos grasos de la dieta puede modificar el tamaño de las lipoproteínas ricas en triglicéridos secretadas por el hígado. El tamaño de las partículas determina parcialmente que cantidad de VLDL es convertida en LDL. Las VLDL constituidas con ácidos grasos saturados son de menor tamaño que las compuestas de ácidos grasos poliinsaturados. Si las VLDL de menor tamaño son más propensas a finalizar en LDL que las de mayor tamaño, éste puede ser un mecanismo de por qué las grasas saturadas pueden conducir a incrementos de LDL plasmáticos (SANDERS, 1988; LEVY *et al.*, 1991; SZTERN y HARRIS, 1991; NORUM, 1992; WELCH y BORLAKOGLU, 1992).

- Variaciones en el catabolismo de las lipoproteínas plasmáticas por modificaciones en:

a) La actividad de enzimas degradativos, como la lipoproteinlipasa.

Los efectos de dietas ricas en grasas sobre la actividad de la lipoproteinlipasa son variables, dependiendo de la duración de los tratamientos y de la naturaleza de la dieta (ENERBÄCK y GIMBLE, 1993).

Algunos investigadores no han encontrado diferencias significativas en la actividad de dicho enzima con distintos tratamientos dietéticos variando la cantidad o el tipo de grasa de la dieta (MELA *et al.*, 1987; HERZBERG y ROGERSON, 1988a, 1992; LOTTENBERG *et al.*, 1992).

Otros autores afirman que las ratas alimentadas con ácidos grasos poliinsaturados poseen una mayor actividad de la lipoproteinlipasa (HORSTRA, 1989; NORUM *et al.*, 1989; WELCH y BORLAKOGLU, 1992) o una mayor producción de sus ARN_m (MURPHY *et al.*, 1993).

Una menor actividad enzimática en tejido adiposo ha sido detectada en ratas alimentadas con aceites de pescado, frente a otras alimentadas con grasa saturada, pudiendo ser este descenso una respuesta adaptativa del enzima a las menores concentraciones de substrato (triglicéridos) (HAUG y HØSTMARK, 1987).

La distinta susceptibilidad de las lipoproteínas a ser lipolisadas, debe residir en otros componentes que no sean los ácidos grasos, puesto que el enzima no se ha mostrado que tenga preferencias por los ácidos grasos poliinsaturados en estudios *in vitro* (NORUM, 1992).

Por el contrario, los estudios realizados con mezclas equimoleculares de triglicéridos de distinta composición en ácidos grasos, mostraron distintas tasas de hidrólisis en función del número de átomos de carbono del ácido graso (8 > 10 > 12 > 14 > 16 > 18) y de la insaturación (C18:1 > C18:3 > C18:2 > C14:0 > C16:0 > C18:0) (WANG *et al.*, 1992). Similares resultados se han observado con humanos (DUPONT *et al.*, 1991) y con ratas a las que se les ha suministrado quilomicrones con diferente composición lipídica. Se observa que la acción del enzima en músculo es mayor en los que contienen ácidos grasos poliinsaturados seguidos de los que contienen saturados y en último lugar los compuestos por triglicéridos de cadena media. Las diferencias encontradas no pudieron ser causa de distinta composición en las lipoproteínas, ya que poseían idéntica composición apoproteica (LEVY *et al.*, 1991).

Sin embargo, las tasas de aclaramiento en humanos, de quilomicrones constituidos de triglicéridos de igual composición y diferente estructura, no se vieron modificadas (ZAMPELAS *et al.*, 1993).

La actividad de la lipoproteinlipasa en músculo, pero no en tejido adiposo o cardíaco, es mayor en las ratas alimentadas con aceite de pescado que en las alimentadas con aceite de maíz y presentan la menor actividad las alimentadas con manteca (HERZBERG, 1991; BALTZELL *et al.*, 1991). También ha sido mostrado que la tasa catabólica de partículas ricas en triglicéridos es mayor con aceite de girasol que con aceite de palma (GROOT *et al.*, 1988).

En experimentos realizados con cantidades equimoleculares de triglicéridos que contienen ácidos grasos con dobles enlaces *cis* (ácido oleico) o dobles enlaces *trans* (ácido elaídico), se observa que la actividad de la lipoproteinlipasa de la glándula mamaria de rata reconoce isómeros geométricos y tiene una fuerte preferencia por los ácidos grasos con dobles enlaces en posición *cis*. La inclusión de isómeros *trans* reduce la actividad del enzima sobre los isómeros *cis* (ZOTTOR y WALKER, 1989).

En las ratas alimentadas con una dieta deficiente en ácidos grasos esenciales, se observa un descenso significativo de la actividad de la lipoproteinlipasa en el tejido adiposo (LEVY *et al.*, 1990). Sin embargo, otros autores encuentran que, en ratas deficientes en ácidos grasos, ésta no aumenta en tejido adiposo pero sí lo hace en el corazón (HJELTE *et al.*, 1990).

b) La actividad de la lecitina colesterol aciltransferasa.

Un aumento en el consumo de ácidos grasos poliinsaturados, substratos preferidos de este enzima (JONAS, 1991), conduce a una mayor actividad de la lecitina colesterol aciltransferasa, especialmente los de origen animal marino (ŽAK *et al.*, 1990) y, consecuentemente, a un incremento en las proporciones de los ácidos grasos poliinsaturados en los fosfolípidos y ésteres de colesterol de las HDL. Este hecho puede producir un aumento en la fluidez de la partícula, lo que le permite una mayor transferencia de los ésteres de colesterol formados, desde la envuelta superficial, al núcleo hidrofóbico de la partícula, dejando la envuelta superficial libre de colesterol y aumentando así, su eficacia para ser captado por las membranas celulares (WELCH y BORLAKOGLU, 1992). Pero otros investigadores indican que la actividad de la lecitina colesterol aciltransferasa disminuye con los ácidos grasos de la familia $\omega 6$ y, sobre todo, con los de la $\omega 3$, lo que explicaría las menores cantidades de HDL detectadas tras la ingesta de

estos tipos de grasas (NORUM, 1992).

c) La captación de LDL mediada por receptores.

En la rata aproximadamente el 50% de las VLDL y entre el 60-80% de las LDL son retirados del plasma por la captación hepática mediada por receptores para la LDL (SRIVASTAVA *et al.*, 1991).

En ausencia de colesterol en la dieta, los ácidos grasos insaturados aumentan modestamente la actividad de los receptores hepáticos para la LDL y los ácidos grasos saturados, láurico, mirístico y palmítico tienen un menor efecto, pero la disminuyen. Sin embargo, existe una interacción entre el colesterol y los triglicéridos de la dieta, donde pequeñas cantidades de colesterol dietario amplifican el efecto supresor de la actividad de los receptores por la grasa saturada, mientras que los insaturados previenen parcialmente este hecho (SPADY y DIETSCHY, 1988). Así, en la rata los ácidos grasos n-3 aumentan la actividad de los receptores hepáticos (SPADY, 1993).

Está aceptado que únicamente una pequeña fracción del colesterol total celular, es el metabólicamente activo e involucrado en la regulación de la expresión genética de los receptores para la LDL. Los ácidos grasos pueden alterar la distribución del colesterol entre la dos fracciones citosólicas del hepatocito, mediando en la actividad del enzima acil-CoA colesterol aciltransferasa. Los ácidos grasos saturados pueden disminuir la acción de este enzima (JACSON *et al.*, 1990), provocando que una menor cantidad de colesterol se esterifique y pase a formar parte del depósito citoplasmático de colesterol esterificado, con lo que existe una mayor cantidad de colesterol libre que estaría inhibiendo, mediante un sistema de retroalimentación, la expresión de los receptores. Probablemente sea un derivado polar del colesterol el que se introduzca en el núcleo y controle la expresión genética. Los ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados, al contrario, acelerarían la esterificación del colesterol, produciendo una disminución de la fracción activa, lo que ocasionaría un mayor número de receptores de LDL expresados y los ácidos grasos de cadena media no afectan a la formación de los ésteres de colesterol (GRUNDY, 1990; CHAUTAN, 1990; SPADY, 1992, 1993; SPADY *et al.*, 1993; DIETSCHY *et al.*, 1993; FERNÁNDEZ y McNAMARA, 1994).

Por otra parte, cuando el doble enlace *cis* del ácido oleico es convertido en *trans*, o es saturado totalmente, esta capacidad de aumentar la actividad de los receptores y disminuir el colesterol plasmático se pierde, comportándose

biológicamente como neutros (DIETSCHY *et al.*, 1993; SPADY *et al.*, 1993).

- Cambios en la distribución de colesterol en el organismo.

Así que, una mayor cantidad de colesterol es transportado en el plasma y una menor reside en los tejidos, cuando se consumen dietas ricas en grasas saturadas. Sobre este punto existen pocas evidencias en el hombre, pero algunas en rata (GURR *et al.*, 1989; GRUNDY, 1990; WELCH y BORLAKOGLU, 1992).

- Modificaciones en la estructura de las membranas celulares y en las propias lipoproteínas.

Se sabe que el mantenimiento de una función óptima de la membrana celular, es un importante determinante de la función metabólica de las células.

El tipo y la cantidad de grasa de la dieta altera la composición de los fosfolípidos de las membranas celulares. Estas variaciones están asociadas con cambios en la fluidez y en la estructura de las mismas. Todo ello puede provocar modificaciones en multitud de procesos, actividad ATPásica, actividades enzimáticas, actividad de receptores hormonales, procesos de transporte, etc. (NORUM *et al.*, 1983; WHALE, 1983; STUBBS y SMITH, 1984; SANDRES, 1988; CHAUTAN *et al.*, 1991; ÖNER *et al.*, 1991; BERDANIER, 1992; BRUCKNER, 1992).

Los ácidos grasos saturados, al contrario que los insaturados, pueden conducir a una membrana menos fluida a la misma temperatura, que dificulte de algún modo el movimiento de los receptores para la LDL a través de ella, en definitiva, un descenso en la actividad de los mismos, lo que reduciría la captación de estas partículas y aumentaría su concentración plasmática (GRUNDY, 1990; NORUM, 1992; WELCH y BORLAKOGLU, 1992).

Los ácidos insaturados producen modificaciones en la composición de los ácidos grasos de las lipoproteínas que pueden provocar cambios en su estructura y en su fluidez. Esto facilita, por ejemplo, en las LDL, su incorporación en los receptores y, por lo tanto, su aclaramiento plasmático (BEYNEN y KATAN, 1989); y diferencias en las características físico-químicas de las HDL que puedan ser un importante factor en su propiedades antiaterogénicas (SOLA *et al.*, 1990).

Las LDL sufren modificaciones *in vivo* que las hacen profundamente aterogénicas (AVIRAM *et al.*, 1988; STEINBERG *et al.*, 1989). Los resultados sugieren que las dietas suficientemente ricas en ácido oleico, además de su efecto hipocolesteremiante, pueden disminuir la progresión de la arteriosclerosis, ya que

se pueden generar LDL más resistentes a las oxidaciones, con lo que se reduce el consumo de antioxidantes, aumentando la eficacia de los mismos (ULBRICHT y SOUTHGATE, 1991; MARDLAW y INSEL, 1993). Indicando que la ingesta de altas cantidades de ciertos ácidos grasos insaturados, como el linoleico, pueden no ser completamente seguras, debido a un probable aumento de la oxidación de la LDL y a que los productos derivados de la oxidación de los ácidos grasos son extremadamente citotóxicos (HENNIG *et al.*, 1994).

2.5.- INFLUENCIA DE LA DIETA SOBRE LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DEL PLASMA

Los ácidos grasos presentes en el plasma y en todo el organismo en general pueden tener un origen exógeno, por la ingesta diaria, y endógeno, por la síntesis y/o transformación de otros ácidos grasos preexistentes.

Parece que únicamente una fuerte manipulación de la composición en ácidos grasos de la dieta, producirá cambios en el perfil lipídico plasmático, que será característico de cada especie si no existieran dichas alteraciones de los ácidos grasos de la dieta, debido a que la cantidad de los mismos en los distintos tejidos depende del destino de los ácidos grasos entre las tasas de síntesis endógena, degradación y transformación, que parecen ser específicas, incluso a nivel de órganos. Las diferentes tasas están en función, entre otros factores, de la disponibilidad de los ácidos grasos, que es modificada directamente por los ingeridos en la dieta (WAKU, 1992).

Por otro lado, los lípidos de depósito son movilizados continuamente; continuamente son depositados nuevos lípidos, y la constancia de la cantidad de lípidos almacenados depende del equilibrio entre estos dos procesos. En estado estacionario la vida media de los almacenes grasos es aproximadamente, en la rata, alrededor de ocho días. Esto significa que en la rata casi el 10% de los ácidos grasos en los lípidos de depósito es reemplazado diariamente por nuevos ácidos grasos. En el hígado de la rata, los ácidos grasos tienen una vida media de dos días aproximadamente, en el cerebro, de diez a quince días (WHITE *et al.*, 1983).

La composición en ácidos grasos de los tejidos esta influida por interacciones metabólicas competitivas entre ácidos grasos de origen endógeno (series $\omega 7$ y $\omega 9$) y de origen exógeno (series $\omega 6$ y $\omega 3$). Los resultados analíticos de la composición en ácidos grasos plasmáticos circulantes reflejan estas interacciones metabólicas y, por tanto, dan una idea de la composición ácida de los lípidos intracelulares de otros tejidos. Los patrones de ácidos grasos de los lípidos del plasma humano se parecen mucho a los observados en los lípidos plasmáticos de la rata, apoyando el concepto de que en general, la selectividad metabólica de los ácidos grasos en la esterificación en los distintos glicerolípidos puede ser similar en humanos y en ratas (LANDS *et al.*, 1990, 1992).

Está aceptado que la composición en ácidos grasos del plasma refleja, en

cierta medida, la composición ácida de la dieta (HORNSTRA, 1989). Así, en animales alimentados con dietas carentes de grasa, la composición de los ácidos grasos plasmáticos coincidió con la hallada en el hígado, aumentando la proporción de ácidos grasos saturados y monoinsaturados; la de animales alimentados con una grasa saturada (aceite de soja hidrogenado), no varió substancialmente de la encontrada en los primeros. El consumo de ácido esteárico no produjo un aumento en los niveles plasmáticos del mismo. El contenido plasmático de palmitoleico si se vio afectado por la ingesta de aceite de maíz, disminuyendo; y se observó un incremento del linoleico, facilitando la reversión a la composición ácida de los animales controles (NELSON *et al.*, 1987).

Algunos autores observan que el perfil plasmático de ácidos grasos está claramente relacionado con la composición de la grasa de la dieta. Así, el cambio a una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados muestra unas mayores proporciones en el plasma de ácido oleico, esteárico, palmítico y palmitoleico (CHANG Y HUANG, 1990). La misma pauta se ha obtenido cuando se sustituye en la dieta la mantequilla por aceite de colza o una margarina rica en este aceite, se observa una mayor proporción plasmática de ácido linoleico. Además el contenido de ácido α -linolénico aumenta en relación a su consumo, de igual manera los ácidos grasos saturados disminuyen y los ácidos grasos poliinsaturados aumentan de acuerdo a su orden competitivo; pero la concentración de ácido oleico no se ve incrementada, a pesar de ser uno de los componentes mayoritarios del aceite de semilla de colza (SEPPÄNEN-LAAKSO *et al.*, 1992). Posteriormente, similares resultados han sido obtenidos por los mismos investigadores, pero en este estudio sustituyeron la margarina por aceite de oliva o de colza y si se detectó respectivamente un incremento de ácido oleico y de α -linolénico en el plasma, proporcional a su cantidad en la dieta (SEPPÄNEN-LAAKSO *et al.*, 1993).

La composición en ácidos grasos de los lípidos totales plasmáticos se ve influida por la composición ácida de los lípidos de la dieta. En ratas alimentadas con distintas fuentes lipídicas (aceite de palma, girasol y pescado) se observó, que el ácido palmítico y el oleico fueron los predominantes en los animales que consumieron aceite de palma, y el linoleico en las que se alimentaron con aceite de girasol. Sin embargo se hallaron cantidades significativas de esteárico y palmítico en todos los grupos, en proporciones similares, aunque dos de las fuentes lipídicas contenían mínimas cantidades. Las mayores diferencias se

encontraron a nivel de los ácidos eicosapentenoico y docosaheptanoico que aparecieron en cantidades muy pequeñas en el plasma de los animales no alimentados con aceite de pescado, respecto de aquellos que consumieron esta fuente lipídica donde aparecieron en mayores cantidades (HALMINSKI *et al.*, 1991). De igual forma, en grupos de cerdos alimentados con aceite de soja, con manteca de vaca o una mezcla de ambas grasas, a dos proporciones diferentes en la dieta (20% y 40% de la energía total), se observó que el contenido en plasma de mirístico, palmítico, palmitoleico y oleico fue menor en los alimentados con aceite de soja, pero no el de esteárico y araquidónico. Por el contrario, la concentración de linoleico y α -linolénico fueron mayores en este grupo. El grupo alimentado con la mezcla de grasas, excepto para el esteárico y araquidónico, para el resto de los ácidos grasos mantuvo valores intermedios.

La proporción de grasa de la dieta no afectó al contenido en plasma de los ácidos grasos, excepto para el caso del araquidónico, que disminuye con el aumento de grasa de la dieta. Se encontró que hubo una interacción entre el tipo y la cantidad de grasa que repercute en las cantidades de palmitoleico y linoleico. Mayores cantidades de manteca en la dieta produjeron mayores porcentajes plasmáticos de palmitoleico, mientras que las mayores proporciones de aceite de soja originaron menores porcentajes del mismo. Contrariamente sucedía con el linoleico, las proporciones mayores de manteca en la dieta no modificaron su concentración plasmática, sin embargo las grandes cantidades de aceite de soja dieron los mayores valores en el plasma (FAIDLEY *et al.*, 1990).

Por el contrario, en otros trabajos, los grandes cambios en la cantidad y en el tipo de los ácidos grasos consumidos, no se vieron reflejados en la composición ácida de los lípidos totales plasmáticos. Del mismo modo, el porcentaje de ácidos grasos insaturados fue resistente a variar y únicamente se detectaron pequeños cambios en la proporción de oleico y palmítico; y en los contenidos de ácido linoleico y araquidónico, que aumentaron con el consumo de aceite de girasol y mantequilla respectivamente (WOOD *et al.*, 1993).

En humanos, se ha comprobado que la sustitución de la grasa de una dieta normal danesa, grasa animal y aceites hidrogenados, por aceite de palma modificó la concentración de todos los ácidos grasos plasmáticos, excepto la de láurico, oleico y araquídico. Pero, ni la suma total de ácidos grasos poliinsaturados, ni la de monoinsaturados, ni la relación poliinsaturados/saturados se vieron afectados. Sin embargo, si se produjo un ligero aumento en el contenido total de ácidos

grasos saturados y en la relación ($\omega 6$)/($\omega 3$) plasmáticos (SUNDRAM *et al.*, 1992).

La composición plasmática en ácidos grasos no es un verdadero reflejo de la composición acídica de la dieta, debido a que es el resultado de la interacción dieta-metabolismo. Así, los contenidos totales de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, observados en los perfiles plasmáticos de ratas alimentadas con cantidades crecientes de aceite de pescado, fueron extraordinariamente constantes. Lo que indica que los animales fueron capaces de contrarrestar las diferencias originadas en las distintas dietas. Sin embargo, si hubo una mayor incorporación, en relación a su ingesta, de ácidos poliinsaturados $\omega 3$ en los lípidos del plasma, a expensas del ácido araquidónico y un concomitante aumento de linoleico (SCHRIJVER *et al.*, 1992). Una respuesta semejante ha sido observada en los perfiles de ácidos grasos de los lípidos hepáticos, en ratas alimentadas de un forma similar (BOURRE *et al.*, 1990; STANGL *et al.*, 1993).

La sustitución de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie $\omega 6$ por los de serie $\omega 3$ en los lípidos corporales, se cree que está bajo control metabólico y sujeta, en cierta medida, a las proporciones de $\omega 6$ en los lípidos de las membranas. Utilizando tres dietas con cantidades crecientes de aceite de pescado (0%, 5% y 10%) y con un porcentaje similar de ácido linoleico, se observó que se produjo un incremento de las proporciones de los poliinsaturados $\omega 3$, cuando ratas consumieron las dietas con aceite de pescado, sin diferencias significativas entre ambas. Posteriormente, se diseñó una cuarta dieta, con un 10% de aceite de pescado y deficiente en linoleico, comprobándose un descenso y un aumento de los ácidos grasos poliinsaturados $\omega 6$ y $\omega 3$ respectivamente, mayores que con las dietas no deficientes en linoleico (SCHRIJVER y PRIVETT, 1982a).

Estos resultados están de acuerdo con el hecho de que los ácidos grasos de la serie $\omega 3$ deprimen la actividad de la $\Delta 6$ -desaturasa, inhibiendo la interconversión de linoleico a araquidónico y aumentando así su aparición en el plasma (BRUCKNER, 1992; HORNSTRA, 1989). Independientemente de la dieta, las cantidades en plasma de ácidos grasos de la serie $\omega 7$ son bajas (SCHRIJVER y PRIVETT, 1982a), probablemente por la rápida elongación del palmítico (LEMARCHAL, 1988) y por la mayor preferencia de la $\Delta 9$ -desaturasa por el esteárico (HOUTSMULLER, 1978).

Está demostrado que las elongasas actúan a una velocidad mucho mayor

que las desaturasas. Al igual que en los procesos de desaturación, existe una competencia por los procesos de elongación entre las distintas familias de ácidos grasos. Por ejemplo, el ácido γ -linolénico es elongado en mayor grado que el α -linolénico; al igual que sucede respectivamente con el eicosapentenoico y el araquidónico. Los ácidos grasos de la serie $\omega 6$ aumentan los procesos de elongación mientras que los saturados los disminuyen (BRENNER, 1989; NORUM *et al.*, 1989; MIMOUNI *et al.*, 1991; BHATHENA, 1992).

Por la acción de las desaturasas, los ácidos grasos van a ser transformados, produciendo, a partir de los ácidos grasos esenciales, un conjunto de ácidos grasos más insaturados. El primer paso de la conversión de los ácidos grasos esenciales en ácidos grasos poliinsaturados de las familias $\omega 3$ y $\omega 6$, es limitante, y se encuentra catalizado por el enzima Δ -6-desaturasa (BERNERT y SPRECHER, 1975; BRENNER, 1989).

Uno de los factores, de los que dependen los niveles de los ácidos grasos poliinsaturados en los tejidos, es la actividad de la Δ 6-desaturasa. El enzima aumenta su afinidad con el número de dobles enlaces del substrato (CHRISTIANSEN *et al.*, 1991), por lo que la actividad enzimática es diferente según el ácido graso de que se trate, y aumenta en el siguiente orden: ($\omega 9$) < < ($\omega 6$) < ($\omega 3$) o, lo que es lo mismo: oleico < < linoleico < α -linolénico. Otra característica del enzima, y del resto de las desaturasas, es que se inhiben por los productos finales de las distintas series. Esto explica el incremento de eicosatrienoico cuando no hay aporte de los ácidos grasos esenciales en la dieta. Los factores que deprimen la actividad de la Δ 6-desaturasa, podrían ser la causa del aumento del porcentaje de linoleico en el plasma (CHOI *et al.*, 1989; BRENNER, 1989; SARDESAI, 1992).

La actividad Δ 6-desaturásica, ya presente en el periodo perinatal en hígado de roedores (BOURRE *et al.*, 1990) y de humanos (POISSON *et al.*, 1993) desciende, entre otros factores, con la edad (BORDONI *et al.*, 1988; CHOI *et al.*, 1989; BOURRE *et al.*, 1990; BIAGI *et al.*, 1991), y con el colesterol de la dieta (HORROBIN, 1983; HORROBIN y MANKU, 1983; HUANG y HORROBIN, 1987). De manera similar, el colesterol dietético afecta a las actividades de la Δ 5-desaturasa (LEIKIN y BRENNER, 1987) y la Δ 4-desaturasa (HUANG *et al.*, 1984, 1990). También, el tipo de fuente proteica afecta a la actividad de la Δ 6-desaturasa y parece que las proteínas de origen vegetal la disminuyen (SUGANO *et al.*, 1988; CHOI *et al.*, 1989; HUANG *et al.*, 1990).

Probablemente, con altas relaciones linoleico/ α -linolénico en la dieta es posible que se puede suprimir la síntesis de la familia $\omega 3$ y con las bajas se favorezca su formación (HØY *et al.*, 1983; GARG *et al.*, 1988; CHOI *et al.*, 1989; BOURRE *et al.*, 1991; CHRISTIANSEN *et al.*, 1991; HWANG, 1992; BRUCKNER, 1992; STANGL *et al.*, 1993). Sobre la actividad del enzima actúan hormonas hiperglucemiantes glucagón, adrenalina y glucocorticoides deprimiendo su acción, mientras que la insulina la incrementa, al igual que sucede con la $\Delta 5$ -desaturasa (LEMARCHAL, 1988; BRENNER, 1989).

En trabajos realizados con dietas exentas de grasa o con dietas deficientes en ácidos grasos esenciales, se ha descrito que se producen modificaciones en la composición ácida del plasma. Se observa que se produce un descenso en el contenido plasmático de linoleico y araquidónico y un incremento en la cantidad de eicosatrienoico. Generalmente, un criterio que se aplica para determinar si un animal es o no deficiente en ácidos grasos esenciales, es observar la relación plasmática C20:3 ω 9/C20:4 ω 6 (trieno/tetraeno), indicada por Holman en 1960 (VERGROESEN, 1989; SARDESAI, 1992; NELSON; 1992). Valores de 0,2 y 0,4 indican deficiencias en ratas y humanos respectivamente. Aunque la validez de este índice ha sido cuestionada (CHAPKIN, 1992).

Parece que una medida más sensible es utilizar dicha relación en los fosfolípidos plasmáticos, y además existen situaciones donde este valor es inapropiado, por ejemplo cuando la formación de C20:3 ω 9 es limitada, debido a la inactividad de la desaturasa específica; o cuando existen importantes cantidades de ácidos grasos de la serie $\omega 3$ en la dieta (GARG *et al.*, 1988; SANDERS, 1988).

La suplementación de una dieta carente de grasa o deficiente en los ácidos grasos esenciales con linoleico, o araquidónico corrige rápidamente la composición ácida, disminuyendo los niveles de C20:3 ω 9 y aumentando los de C18:2 ω 6 y C20:4 ω 6, con lo que se mejora la relación trieno/tetraeno (WAINWRIGHT, 1992). En esta reducción también es muy efectivo el ácido γ -linolénico (HUANG *et al.*, 1984, 1990, 1991; HORROBIN *et al.*, 1991; BIAGI *et al.*, 1991). Las deficiencias en ácidos grasos esenciales de la familia n-3 generalmente, van acompañadas de un aumento del ácido C22:5 ω 6, la suplementación con α -linolénico, eicosapentenoico y docosahexaenoico rehabilita sus cantidades (KELLY, 1991). También es posible corregir su déficit con el suplemento de estearidónico (VOSS y SPRECHER, 1988; HUANG *et al.*, 1991;

YAMAZAKI *et al.*, 1992).

En diversos trabajos con animales y humanos se ha demostrado que la elevación del colesterol alimentario o de la colesterolemia disminuye la conversión del ácido linoleico en sus metabolitos activos. Estos resultados son evidentemente perjudiciales, puesto que son sobre todo los sujetos hipercolesterolémicos, los que deberían aumentar su relación en ácidos grasos poliinsaturados. Sería necesario, en estas condiciones, aportar directamente los metabolitos activos de l ácido linoleico o disminuir la colesterolemia por otros medios, para mejorar el metabolismo del ácido linoleico (PAGE, 1993).

En ratas alimentadas con aceite de coco, deficiente en ácidos grasos esenciales, cuando se compararon con las control, se observó que el patrón de ácidos grasos hepáticos (KURATA y PRIVETT, 1980a) y plasmáticos se alteró profundamente. Los ácidos grasos de las familias $\omega 6$ y $\omega 3$ disminuyeron y los de las $\omega 9$ y $\omega 7$ aumentaron aunque, en los referentes al plasma se detectó un aumento del ácido dihomo- γ -linolénico (KRAMER *et al.*, 1986). Idénticos resultados se obtuvieron con ratas a las que se causó una deficiencia en ácidos grasos esenciales. Además, se detectó en concreto, un descenso en el contenido de los ácidos α -linolénico y docosahexaenoico. Las cantidades de linoleico y araquidónico disminuyeron cinco y dos veces respectivamente, mientras que las de palmitoleico y eicosatrienoico aumentaron tres y más de cien veces. Estas modificaciones produjeron una elevación de la relación trieno/tetraeno e igualmente, de la relación palmitoleico/linoleico, que también ha sido usada como un buen índice discriminatorio de una deficiencia en ácidos grasos esenciales (LEVY *et al.*, 1990).

Contrariamente, en un trabajo realizado con seis grupos de ratas alimentados con varias dietas, una exenta de grasa, otra con aceite de coco hidrogenado y finalmente, otra con aceite de girasol, todas ellas combinadas con glucosa o fructosa, se observó que las actividades de los enzimas $\Delta 5$ -, $\Delta 6$ - y $\Delta 9$ -desaturasas no se alteraron en el caso de la adición de aceite de coco hidrogenado en la dieta. Sin embargo, la inclusión de aceite de girasol deprimió todas las actividades. Cuando se comparó la suplementación con azúcares, se detecto que la fructosa y la sacarosa indujeron una mayor actividad de la $\Delta 9$ -desaturasa que la glucosa, y que al añadir grasa a la dieta, con la consiguiente disminución de la cantidad de carbohidrato, hubo un descenso del efecto inductor de la fructosa de la dieta sobre la actividad $\Delta 9$ -desaturásica. Ni el contenido hepático de

araquidónico y eicosatrienoico, ni las actividades de la $\Delta 5$ - y $\Delta 6$ -desaturasas se vieron afectadas por la fuente de glúcidos dietarios (SCHRIJVER y PRIVETT, 1983).

La actividad de la $\Delta 9$ -desaturasa responde a cambios en la dieta, de forma similar como lo hacen los enzimas lipogénicos (LEAT, 1983; BRENNER, 1989).

Está aceptado que la insulina, una dieta exenta de grasa o deficiente en ácidos grasos esenciales están asociadas con un aumento de las actividades de la $\Delta 9$ - y $\Delta 6$ -desaturasas. Un exceso de carbohidratos en la dieta incrementa $\Delta 9$ -desaturación; y que la $\Delta 6$ -desaturasa es menos sensible a una inducción, por los glúcidos de la dieta (WELCH y BORLAKOGLU, 1992). Probablemente debido a que una dieta alta en glúcidos y baja en grasa activa la polimerización de los protómeros de enzima, que es su forma activa (LEAT, 1983).

En relación a la fructosa se ha demostrado, *in vivo* (BRENNER, 1989) y con cultivo de hepatocitos (LEGRAND y BENSADOUN, 1991) que ésta y no la glucosa posee un efecto estimulante sobre la actividad de la $\Delta 9$ -desaturasa. Otra opinión recoge la idea, de que los diferentes azúcares de la dieta ejercen cuantitativamente diferentes efectos sobre la actividad de la $\Delta 9$ -desaturasa, siendo la fructosa la que más la induce (BHATHENA, 1992). Aunque, otros autores sugieren que, en general, los glúcidos simples aumentan la actividad del enzima cuando es sustituido por ellos el almidón en la dieta, lo mismo que la grasa saturada (SCHRIJVER y PRIVETT, 1983), pero sobre este último caso existe controversia (LEMARCHAL, 1988). El colesterol dietario también aumenta la actividad de este enzima (LEIKIN y BRENNER, 1987; GARG *et al.*, 1988).

Las altas proporciones de grasa, de ácido linoleico y de grasas poliinsaturadas de la dieta (CHRISTIANSEN *et al.*, 1991; BHATHENA, 1992; GRØNN *et al.*, 1992; STANGL *et al.*, 1993), ayuno y alcohol (BRENNER, 1989), y una restricción proteica disminuyen la actividad del enzima, al igual que las actividades del resto de las desaturasas, y una tasa elevada de proteínas en el régimen las incrementa (LEMARCHAL, 1988; NARCE *et al.*, 1988, 1992; SARDESAI, 1992).

En un estudio con humanos alimentados enteralmente por medio de soluciones glucídicas nasogástricas, donde se suministró el doble de los requerimientos energéticos basales, se observó un profundo incremento en el plasma, de la cantidad de C16:0, producto predominante de la síntesis *de novo* de ácidos grasos, y de la relación C16:1 ω 7/C16:0, que indica un aumento en la

actividad de la $\Delta 9$ -desaturasa, al igual que lo sugieren los aumentos en la relación C18:1 ω 9/C18:0 de los lípidos totales y de los fosfolípidos plasmáticos (BRENNER, 1989). Además, también se detectó un aumento en la actividad $\Delta 6$ -desaturásica, mostrado por el incremento en las relaciones C18:3 ω 6/C18:2 ω 6 y C20:3 ω 6/C18:2 ω 6. Pero los descensos en las relaciones producto/precursor de las reacciones de elongación (C18:1 ω 7/C16:1 ω 7 y C20:3 ω 6/C18:2 ω 6) sugirieron una disminución de las mismas. Por último, se vio que no hubo una aparición concomitante de C20:3 ω 9 al descenso mostrado en el contenido de ácido linoleico, lo que indica que, a pesar de la pérdida de su precursor, deben existir mecanismos compensatorios que mantengan los niveles de araquidónico constantemente en los tejidos (VAN DOORMAAL *et al.*, 1987).

Resultados similares se han obtenido con ratones, a través de manipulaciones dietéticas donde se provocó una deficiencia en ácidos grasos esenciales y se indujo además una mayor actividad de la $\Delta 9$ -desaturasa. Entre varios tejidos estudiados, se observó una disociación en los efectos producidos entre hígado y plasma, encontrando una disminución en el contenido plasmático de linoleico y un aumento en el de oleico. En los fosfolípidos hepáticos se halló un gran aumento en la relación trieno/tetraeno, sin embargo en el plasma la cantidad de C20:3 ω 9 no aumentó por la inducción del enzima, lo que produjo que la relación solo se incrementara modestamente. La marcada síntesis y acumulación hepáticas de C20:3 ω n-9 producida por la manipulación dietética, no se vieron reflejadas por un aumento en la cantidad de eicosatrienoico plasmático. De lo que se deduce, que los efectos de una inducción $\Delta 9$ -desaturásica, aunque el hígado juega un papel crítico en el mantenimiento de la homeostasis de los ácidos grasos poliinsaturados, deben ser atenuados por otros tejidos además de éste (LEFKOWITH, 1990).

La deficiencia proteica en la dieta es otro de los factores que afecta, a la composición de los ácidos grasos de las distintas clases de lípidos tisulares, debido a una disminución en la actividad de la distintas desaturasas. Pero ambas modificaciones no están paralelamente relacionadas, indicando que el cambio en la composición ácida depende de la interacción de varios factores tales como oxidación, bioconversión, biodisponibilidad de los ácidos grasos (NARCE *et al.*, 1988, 1992). De todas formas, una deficiencia proteica puede aumentar las deficiencias en ácidos grasos esenciales por una menor biodisponibilidad de los mismos (BOZIANE *et al.*, 1992).

De modo general, está demostrado que cuando los animales de experimentación son sometidos a dietas carentes de grasas o exclusivamente alimentados con grasa saturada de cualquier origen, se produce una disminución, en los lípidos de sus tejidos, de los ácidos grasos de las familias $\omega 6$ y $\omega 3$ y un depósito de productos de la desaturación y elongación de las series $\omega 9$ y $\omega 7$ (BRUCKNER, 1992).

La modificación de la composición en ácidos grasos, por el consumo de isómeros *cis* y *trans* en las grasas hidrogenadas, es compleja. Probablemente, es el resultado de la combinación de varios factores, entre los que se incluye la composición acídica de la dieta, la actividad y la selectividad de ciertas enzimas. Los efectos de estos factores varían con la especie animal, el tejido, la clase lipídica específica y las condiciones experimentales. La única generalización que puede ser hecha es que el consumo de aceites vegetales parcialmente hidrogenados, normalmente, reduce la proporción de araquidónico y eleva la de oleico (EMKEN, 1984).

En ratas alimentadas con isómeros de ácidos grasos, se ha observado que la relación plasmática araquidónico/linoleico disminuye; y aumenta la cantidad de eicosatrienoico, a medida que se incrementa la proporción de isómeros y descende la de linoleico en la dieta. Sin embargo, las concentraciones plasmáticas de eicosatrienoico se hallaron siempre por debajo de los valores indicativos de una deficiencia en ácidos grasos esenciales (EDWARDS-WEBB, 1988).

Con cerdos se han obtenido los mismos resultados, pero además se observó, que el porcentaje de isómeros *trans* que aparecía en el plasma y en distintos tejidos, era dependiente de la proporción de los mismos en la dieta y no de la fuente lipídica en la misma (aceite de soja parcialmente hidrogenado, aceite de pescado parcialmente hidrogenado y aceite de pescado hidrogenado). También se vio, que el consumo de grasas hidrogenadas provocó una disminución de los ácidos grasos saturados, que se vieron compensados por un incremento del porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados, incluyendo a los *trans*. Respecto al ácido eicosatrienoico, no pudo ser detectado en plasma, ahora bien, en hígado, corazón y cerebro se observó que aumentaba por la combinación de dos factores: la ingesta de grasa hidrogenada y los menores consumos de linoleico (PETTERSEN y OPSTVEDT, 1992).

En experimentos de características similares, se detectó que las concentraciones plasmáticas de los ácidos linoleico y araquidónico fueron un

reflejo de las proporciones de los mismos en las diferentes dietas. Lo mismo sucedió para los isómeros *trans*, y virtualmente no se halló la presencia de eicosatrienoico. Todos estos hechos fueron reproducibles cuando se añadió colesterol a las dietas (SUGANO *et al.*, 1983; WATANABE *et al.*, 1984).

Una de las razones que puede explicar las bajas proporciones plasmáticas de araquidónico, encontradas tras una ingesta de dietas confeccionadas con grasa animal o vegetal hidrogenada, reside en el hecho de que los isómeros *trans* pueden aumentar la β -oxidación en los peroxisomas de los ácidos grasos poliinsaturados, donde se incluye al ácido araquidónico (NORUM *et al.*, 1989).

Por el contrario, los resultados obtenidos por otros investigadores no indican que el aumento de la oxidación de araquidónico explique su disminución en diferentes tejidos, sino que otro de los factores que produce incrementos en los porcentajes de linoleico en el plasma, entre distintos tejidos, es la ingesta de isómeros *trans*, que disminuyen (HØLMER *et al.*, 1982) o inhiben la actividad de la $\Delta 6$ -desaturasa, sobre todo cuando las cantidades dietarias de ácidos grasos esenciales son bajas (SCHRIJVER y PRIVETT, 1982a; HUANG *et al.*, 1984; SANDERS 1988), detectándose, en el perfil ácido de los microsomas hepáticos, un incremento notable de las proporciones de palmitoleico, oleico y eicosatrienoico y una disminución de araquidónico, lo que provoca un alto valor de la relación trieno/tetraeno. También, aumentando la saturación de los lípidos tisulares y de los requerimientos de ácidos grasos esenciales (KURATA y PRIVETT, 1980b). Además se ha observado que la ingesta de isómeros *trans* modifica la composición ácida de los tejidos, independientemente de la cantidad de linoleico de la dieta, dando como resultado un aumento en la relación linoleico/araquidónico. Lo que podría indicar una supresión de la síntesis de araquidónico y modificaciones de la estructura de la membrana (WELCH y BORLAKOGLU, 1992).

Algunos trabajos indican que la $\Delta 9$ -desaturasa no es inhibida por isómeros *trans*, en animales que no muestran una deficiencia en ácidos grasos esenciales, incluso es estimulada la actividad de este enzima, pero debido al descenso en la actividad de la $\Delta 6$ -desaturasa producido por los isómeros *trans*, puede presentarse en estos animales una elevación en las proporciones de oleico y palmitoleico en sus tejidos (SCHRIJVER y PRIVETT, 1982b).

La inhibición de la actividad enzimática por los isómeros *trans*, es más pronunciada en animales con una deficiencia en ácidos grasos esenciales, que en

los que no la presentan (SCHRIJVER y PRIVETT, 1982b; HOLMAN *et al.*, 1983; COOK y EMKEN, 1990; BEYERS y EMKEN, 1991).

Parece ser que no todos los isómeros *trans* del ácido linoleico disminuyen la conversión de linoleico en araquidónico cuando se encuentran en cantidades importantes en la dieta (GOTTENBOS, 1983). El enzima reconoce la distancia de seis carbonos desde el grupo carboxilo y también si el doble enlace del carbono nueve es *cis*, puesto que si es *trans* se inhibe la reacción. Está demostrado que se produce una competencia de los isómeros *trans* con el linoleico provocando una fuerte inhibición del enzima en el siguiente orden: linoelaídico (C18:2 ω 6, *trans,trans*) > elaídico (C18: ω 9, *trans*) > *trans* vaccénico (C18:1 ω 7, *trans*) (BRENNER, 1989).

Sin embargo, *in vivo* e *in vitro*, con distintos animales de experimentación se ha probado que una amplia variedad de isómeros *trans* de ácidos grasos insaturados interfieren con el metabolismo de los ácidos grasos esenciales, deprimiendo las actividades de las distintas reacciones Δ 6-, Δ 5-, Δ 9- de desaturación y las de elongación (COOK, 1981; HOLMAN *et al.*, 1983; THOMASSEN *et al.*, 1984; EMKEN, 1984; NORUM *et al.*, 1989; VERGROESEN, 1989; COOK y EMKEN, 1990; HWANG, 1992). Por otro lado, algunos investigadores opinan que está todavía por debatir el que la baja tasa de biosíntesis de ácido araquidónico producida por la inhibición de los isómeros *trans* o del α -linolénico tenga algún efecto nocivo o que su significado fisiológico sea relevante. Y que la biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados solamente no es suficiente para explicar los complicados cambios que suceden en la composición acídica, tras la ingesta de diferentes grasas (ZEVENBERGEN y HOUSTMULLER, 1989).

Estudios realizados en niños prematuros en relación con sus concentraciones plasmáticas de ácidos grasos *trans*, indican que puede provocarse un deterioro potencial del metabolismo de los ácidos grasos esenciales. Este se debe a que los recién nacidos y especialmente los niños prematuros tienen extremadamente limitadas las reservas de ácidos grasos esenciales, por lo que la vulnerabilidad nutricional está muy presente (DECSI y KOLEZTKO, 1994) y pueden no ser capaces de compensar estas distorsiones inducidas por la ingesta de ácidos grasos *trans* (KOLEZTKO, 1992), sumándose a lo anterior que los requerimientos en estas etapas se encuentran incrementados (SARDESAI, 1992; CHAPKIN, 1992; GUESNET *et al.*, 1993).



Los ácidos grasos esenciales, además de tener importancia estructural y funcional, también son los precursores de las prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y de otros hidroxí-ácidos grasos, conocidos colectivamente como eicosanoides. Estos compuestos poseen muchas y muy importantes funciones y ejercen una profunda influencia en multitud de reacciones celulares (DEWITT, 1991; CHAPKIN, 1992; HWANG, 1992).

El tipo y las manipulaciones de la grasa de la dieta, como pueden ser la cantidad consumida de ácidos grasos esenciales de la familia $\omega 6$, de la $\omega 3$, de ácidos grasos *trans* etc... , van a tener una gran relevancia sobre la producción de estos compuestos, pudiendo derivar en consecuencias positivas o negativas, ya que la grasa de la dieta ejerce su efecto, modulando la composición de los ácidos grasos de los lípidos tisulares que servirán como sustratos en la síntesis de los eicosanoides, con muy diversas acciones biológicas y estructuras conocidas (VERGROESEN, 1989; HORNSTRA; 1989; YEO *et al.*, 1989; STEEL *et al.*, 1990; LANDS, 1991; DUPONT *et al.*, 1991; KELLY, 1991; ULBRICHT y SOUTHGATE, 1991; LANDS *et al.*, 1992; NELSON, 1992; HWANG, 1992; BOISSONNEAULT y HAYEK, 1992; BRUCNER, 1992; HUNTER, 1992) o por el contrario, de autacoides de función y estructura desconocida (HOLMAN *et al.*, 1983, 1991).

La composición plasmática de ácidos grasos refleja la grasa consumida a corto plazo, sin embargo la composición acídica de los fosfolípidos del suero es menos variable que la del plasma y describe de algún modo, el tipo de grasa dietaria ingerida en un periodo más largo de semanas e incluso de meses (DOUGHERTY *et al.*, 1987; MOILANEN, 1987).

Se ha observado que ratas alimentadas con dietas ricas en carbohidratos y exentas de grasa, tienen cantidades significativas de ácido oleico y palmítico en sus fosfolípidos. Además, se ha demostrado que el perfil acídico variará dependiendo del glúcido utilizado en la dieta. Cuando las ratas han sido alimentadas con fructosa poseerán unas mayores proporciones de ácidos grasos saturados en sus fosfolípidos, que cuando se ha alimentado a los animales con almidón (BERDANIER, 1992).

Las variaciones interraciales a las respuestas de la grasa de la dieta y particularmente, a la composición de ácidos grasos de las fracciones lipídicas, que pudieran ser provocadas por la amplia gama de razas de ratas utilizadas en la experimentación, quedan enmascaradas por la influencia propia de la dieta. Con



animales alimentados con diferentes fuentes lipídicas ricas en oleico, linoleico, α -linolénico o eicosapentenoico y docosahexenoico, se observó que hubo un pequeño efecto de la dieta sobre la proporción de los diferentes ácidos grasos saturados en las fracciones lipídicas del plasma. El contenido de ácido oleico aumentó en todas las fracciones y principalmente en los triglicéridos, en los animales alimentados con aceite de oliva, lo mismo sucedió con el α -linolénico en respuesta a la dieta basada en aceite de semilla de lino. Como el ácido araquidónico, el eicosapentenoico fue hallado en mayores proporciones en los ésteres de colesterol independientemente si estaban producidos endógenamente a partir de sus precursores linoleico y α -linolénico, o si eran obtenidos en la dietas. Ahora bien, el docosahexenoico se acumuló en triglicéridos y fosfolípidos cuando estuvo incluido en la dieta pero solamente en los fosfolípidos cuando fue sintetizado endógenamente (GIBSON *et al.*, 1992).

El suplemento en la dieta con los ácidos grasos 18:3 ω 3 o 18:4 ω 3 produce en ratas, un aumento en la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la serie ω 3 y un descenso de araquidónico en el siguiente orden fosfolípidos > triglicéridos > ácidos grasos libres del plasma, siendo mayor este efecto en el caso del ácido estearidónico, que se encontró solamente en muy pequeñas proporciones en los triglicéridos y ácidos grasos libres, lo que sugiere su rápida conversión. El ácido α -linolénico se incorporó, en pequeñas cantidades, en las fracciones cuando se hallaba en la dieta. Las variaciones en el contenido de linoleico, monoinsaturados y saturados fueron mínimas (YAMAZAKI *et al.*, 1992). También se han hallado cambios, que siguieron la misma pauta, entre los contenidos de araquidónico y eicosapentenoico en los fosfolípidos y ésteres de colesterol plasmáticos en ratas a las que se les suministraron infusiones de eicosapentenoico y docosahexaenoico (YAMAZAKI y HAMAZAKI, 1991, 1992).

Además de las interacciones competitivas entre las distintas familias de ácidos grasos, otro de los factores que afectan a la conversión de los ácidos grasos esenciales en sus metabolitos más insaturados, es su afinidad por otras rutas metabólicas. La longitud de la cadena y el grado de insaturación influyen en la tasa de oxidación de los ácidos grasos y en la actividad de las aciltransferasas. El linoleico es oxidado a mayor velocidad que el γ -linolénico o el araquidónico. Sin embargo el α -linolénico se oxida más rápidamente que el linoleico, esto podría explicar en parte, el porqué el α -linolénico es incorporado en pequeña cantidad en los fosfolípidos y el araquidónico y docosahexenoico se integran ávidamente

en los mismos (LEYTON *et al.*, 1987; SANDERS, 1988; NELSON, 1992).

Algunos autores han propuesto relaciones algebraicas que describen cuantitativamente las interacciones de los ácidos grasos exógenos de la dieta, entre las familias del α -linolénico y linoleico, además de las existentes entre los ácidos grasos endógenos y los exógenos. Una ecuación lineal refleja la incorporación de los mismos en los triglicéridos y una ecuación hiperbólica explica su conversión en poliinsaturados de cadena más larga y su incorporación a los fosfolípidos. Así, en ratas alimentadas con aceite de maíz los saturados representaron un valor medio del 31%, los insaturados del 65% y los poliinsaturados de 20 átomos de carbono del 4,7%; en los triglicéridos plasmáticos y en los fosfolípidos del 45%, 29% y 27% respectivamente. Ambas ecuaciones pueden ser incluso utilizadas, para hacer una estima reversa de la ingesta de $\omega 3$ y $\omega 6$, usando la composición en ácidos grasos de las fracciones lipídicas del plasma (LANDS *et al.*, 1990, 1992).

El consumo de aceite de soja produjo un aumento en el contenido total de ácidos grasos $\omega 3$ y $\omega 6$ y un descenso de los monoinsaturados de los fosfolípidos y triglicéridos plasmáticos, cuando se comparó con aceite de girasol. Además la composición en ácidos grasos de ambas fracciones del suero también es modificada, cuando se someten ratas a restricciones proteicas en la dieta. Se observó un descenso del contenido de linoleico y araquidónico, y un incremento de palmítico en los fosfolípidos, mientras que la relación araquidónico/linoleico aumentó en los triglicéridos. Aunque, el contenido total de ácidos grasos de las series $\omega 6$ y $\omega 3$ se redujo y se elevó el contenido de C20:3 $\omega 9$ y C22:5 $\omega 6$ de las dos fracciones (BOUZIANE *et al.*, 1992).

Con lotes de ratas alimentadas con dietas basadas en aceite de pescado/grasa saturada, aceite de girasol, grasa saturada y aceite de girasol/aceite de pescado, se observa que los mayores descensos de araquidónico y los aumentos más elevados de los poliinsaturados de cadena larga de la serie $\omega 3$, en las diferentes fracciones lipídicas plasmáticas y hepáticas se alcanzaron, con la combinación grasa saturada/aceite de pescado, que cuando se asocia aceite de girasol y de pescado. De esta manera, se detectó que en el lote al que se le suministró aceite de girasol, hubo un aumento en el contenido de linoleico y araquidónico en los fosfolípidos plasmáticos y hepáticos, acompañado de una disminución en los ácidos grasos saturados (palmítico y esteárico), monoinsaturados (oleico, palmitoleico y vaccénico) y del docohexaenoico. Los



animales alimentados con la fuente lipídica rica en $\omega 6/\omega 3$ mostraron las mismas variaciones, pero en un menor grado que el lote que consumió la grasa rica en ácidos grasos $\omega 3$, observándose un descenso en el contenido de araquidónico y un concomitante aumento de eicosapentenoico y docosaheptaenoico, cuando se comparó con las que se alimentaron con grasa saturada. La composición en ácidos grasos de los triglicéridos plasmáticos fue un reflejo de las distintas grasas suministradas, detectándose un descenso de la proporción de araquidónico en el lote alimentado con aceite de pescado. Los ésteres de colesterol exhibieron los mayores descensos en el contenido de araquidónico y los mayores incrementos en los de eicosapentenoico en los animales alimentados con el aceite de pescado en asociación con la grasa saturada. La ingesta combinada de $\omega 3$ y $\omega 6$ produjo, en menor extensión, los mismos efectos (GARG *et al.*, 1988).

Variaciones similares se obtuvieron en la composición ácida de los ésteres de colesterol y triglicéridos plasmáticos, utilizando dietas enriquecidas con ácido α -linolénico o con eicosapentenoico/docosaheptaenoico. A excepción de un incremento del ácido araquidónico en los triglicéridos plasmáticos y los ésteres de colesterol hepáticos. Indicando que estas dos fracciones, pueden jugar un papel dinámico en el mantenimiento de la homeostasis de los lípidos. La disminución observada del contenido de araquidónico en los fosfolípidos hepáticos y plasmáticos, tras el consumo de grasas ricas en ácidos grasos de la serie n-3, puede ser parcialmente explicada por un movimiento de araquidónico desde los fosfolípidos a los triglicéridos y/o ésteres de colesterol, además de por una competencia entre el eicosapentenoico y el araquidónico por su incorporación en los fosfolípidos (GARG *et al.*, 1989), por una inhibición de los procesos de elongación-desaturación que conducen a su síntesis, y/o por un menor contenido de araquidónico dietario (JIANG y SIM, 1992).

Las alteraciones sufridas, en ratas, en la composición de los triglicéridos y ésteres de colesterol, por la ingesta de aceite de pescado pueden ser debidas, además, a factores adicionales a los dietarios, como un aumento de la esterificación plasmática de colesterol o a la presencia de triglicéridos de origen intestinal (ŽÁK *et al.*, 1990). Y a diferencias metabólicas puesto que, el reparto entre las rutas de oxidación y esterificación son diferentes. El araquidónico principalmente es dirigido a los fosfolípidos mientras que, el eicosapentenoico es esterificado en triglicéridos y también oxidado (NORUM *et al.*, 1989), al igual que sucede con el ácido oleico (WAKU, 1992).

También se ha observado un descenso, que dividió por dos el contenido de araquidónico, en los fosfolípidos de ratas alimentadas con mantequilla, sin apreciar cambios en el de linoleico. Además se halló un incremento de los ácidos grasos de la serie $\omega 9$ y $\omega 3$. Sin embargo, a pesar de los grandes cambios la proporción total de ácidos grasos poliinsaturados se mantuvo constante. Este efecto pudo deberse al aumento de los poliinsaturados de la serie $\omega 9$ y principalmente a los de la serie $\omega 3$. Indicando que las relativamente bajas cantidades de linoleico no impidieron la inhibición de la síntesis de metabolitos de oleico y α -linolénico presentes en la dieta (NAUGHTON *et al.*, 1988). En los fosfolípidos séricos se ha detectado una menor incorporación de linoleico, cuando se alimenta a ratas con aceite de oliva frente a otras que ingieren dietas con aceite de soja hidrogenado o una mezcla de aceites vegetales como fuentes lipídicas (ZEVENBERGEN y HOUSTMULLER, 1989).

Se ha demostrado, alimentando a ratas con diferentes proporciones de manteca o mantequilla en la dieta (10%, 30% y 50%), que la disminución de araquidónico en los fosfolípidos plasmáticos es dosis-dependiente. Pero no ocurre con aceite de oliva o de cacahuete, indicando que las bajas relaciones poliinsaturados/saturados son insuficientes, para suministrar la adecuada cantidad de linoleico y mantener los niveles de araquidónico. Todo ello puede verse exacerbado, si en la dieta además existen cantidades excesivas de saturados o monoinsaturados que reduzcan esta conversión. El aumento en los metabolitos $\omega 3$ se produjo al ir incrementando la proporción de grasa en la dieta, por la disminución paulatina en la proporción $\omega 6/\omega 3$, que disminuyó desde 9,4 en la dieta que contenía un 10% de manteca a 3 en la que contenía un 50%, (STEEL *et al.*, 1990).

Cuando se comparó el efecto de una dieta deficiente en ácidos grasos esenciales, con otras basadas en aceite vegetales, se detectó que la distribución de los ácidos grasos de los fosfolípidos reflejó la deficiencia, en los animales alimentados con la primera dieta. Mostrando una disminución de linoleico y araquidónico, y un aumento del eicosatrienoico. Los contenidos de ácidos de la familia $\omega 3$ fueron muy bajos, debido a su baja cantidad en las dietas. Además, cuando se añadió colesterol a las dietas, en las ratas que consumieron la dieta deficiente, se detectó un potenciamiento de este hecho. En las no deficientes, se observó un descenso del araquidónico o de sus metabolitos pero un incremento de linoleico y de dihomo- α -linolénico. En los ésteres de colesterol la deficiencia

en ácidos grasos produjo variaciones similares. Pero en esta fracción se vio un mayor contenido de palmitoleico, y el colesterol redujo sensiblemente los contenidos de araquidónico y de sus metabolitos (HUANG *et al.*, 1984). La composición en ácidos grasos de las fracciones lipídicas hepáticas, de ratones a los que se les provocó una deficiencia en ácidos grasos esenciales, mostraron variaciones muy similares (HUANG *et al.*, 1991).

En un estudio utilizando personas a los que se suministraron dietas ricas en palmítico, esteárico u oleico se hallaron, como únicas variaciones, que el porcentaje de oleico en los ésteres de colesterol y triglicéridos del suero, fue mayor en los que consumieron el régimen rico en esteárico cuando se comparó con el grupo del palmítico y que en ambas fracciones hubo un descenso en el contenido de palmítico y un aumento de oleico en los que se alimentaron con la dieta rica en oleico, no hallándose diferencias entre los grupos del esteárico y del oleico (BONANOME y GRUNDY, 1988).

También se han hallado modificaciones en los ácidos grasos de los triglicéridos plasmáticos en individuos a los que se les alimentó con aceite de palma como fuente lipídica. El porcentaje de oleico y palmítico aumentó respecto a la dieta control. Por otro lado, la ingesta de aceite de palma causó una reducción en los contenidos de palmitoleico, margárico, α -linolénico, un aumento en la suma total de saturados y en la relación $\omega 6/\omega 3$, mientras que no se encontraron diferencias en la suma de los mono y poliinsaturados (SUNDRAM *et al.*, 1992).

En los ésteres de colesterol se han mostrado diferencias entre sujetos que se han alimentado con una dieta baja en grasa y con dietas ricas en grasa saturada, monoinsaturada o poliinsaturada, detectándose en aquellos que consumieron poliinsaturados, un reducción de la proporción de mirístico, palmítico, palmitoleico y oleico y un aumento del linoleico. Un descenso de palmítico y un incremento del α -linolénico, probablemente debido a su riqueza en la dieta, en los que se alimentaron con monoinsaturados, cuando se comparó con el grupo que se le suministró grasa saturada. No se encontraron variaciones, por la cantidad de grasa de la dieta, en la proporciones de saturados y poliinsaturados, ni se alteró la composición de los ácidos grasos (SARKKINEN *et al.*, 1994). En individuos donde se duplica el contenido de ácidos grasos poliinsaturados de la dieta, se observa en los ésteres de colesterol, un aumento significativo de linoleico y una reducción de palmitoleico y oleico, sin detectar variaciones en los

contenidos de araquidónico y palmítico (KROMHOUT *et al.*, 1987). En otros estudios si se ha observado un aumento significativo del contenido de araquidónico en los fosfolípidos plasmáticos pero no significativo en los ésteres de colesterol, tras el consumo de una dieta rica en aceite de girasol. En los triglicéridos y en los fosfolípidos también se detectó un incremento de las proporciones de linoleico, y un descenso del contenido de oleico y palmítico en los fosfolípidos y triglicéridos respectivamente (HORROBIN *et al.*, 1991).

La sustitución en la dieta de mantequilla por aceite de colza o una margarina fabricada con este aceite, causó en el grupo que consumió aceite de colza, una pequeña disminución de los saturados en los fosfolípidos del plasma a favor de los monoinsaturados, con un concomitante aumento de los poliinsaturados $\omega 3$ y $\omega 6$, conforme a su rango competitivo. Los $\omega 6$ aumentaron a expensas de los monoinsaturados, el α -linolénico solamente aumentó temporalmente, lo que indica su utilización como precursor de otros $\omega 3$ que permanecieron elevados. Los cambios acaecidos en el grupo de individuos que consumió margarina, fueron similares a los anteriores con la diferencia que ocurrieron a nivel de los $\omega 6$, debido a la escasa cantidad de α -linolénico aportado en la dieta (SEPPÄNEN-LAAKSO *et al.*, 1992). Los mismos investigadores, en un trabajo posterior, sustituyen la margarina de la dieta por aceite de colza o de oliva y obtienen con el primer aceite conclusiones similares a las anteriores. El aceite de oliva causó un aumento en el porcentaje de oleico incorporado en los fosfolípidos y una disminución del linoleico. Sin embargo la cantidad de araquidónico aumento probablemente a causa de una mayor desaturación del linoleico por la menor cantidad de $\omega 3$ y $\omega 6$ en la dieta, pero los efectos competitivos entre las distintas familias no pudieron ser observados (SEPPÄNEN-LAAKSO *et al.*, 1993).

Durante los procesos de hidrogenación se pueden producir una gran cantidad de isómeros geométricos y posicionales diferentes. La situación ideal para examinar sus efectos biológicos se daría cuando se fuera capaz de poder estudiarlos individualmente, pero este hecho no se da con frecuencia, debido a la imposibilidad de reproducir isómeros, tanto posicionales como geométricos, de una forma individualizada, en grandes cantidades (CRAIG-SCHMIDT, 1992; WOOD, 1992).

Usando diferentes técnicas se ha podido comprobar que los distintos isómeros tienen preferencias, por ser incorporados a las distintas fracciones

lipídicas del plasma. De una forma limitada lo hacen en los fosfolípidos y ésteres de colesterol, quedando principalmente alojados en los triglicéridos (SANDERS, 1988) aunque otros investigadores indican que son incorporados mayoritariamente en los triglicéridos y fosfolípidos, y en una menor cuantía en los ésteres de colesterol (KOLETZKO, 1991). El ácido elaidico es esterificado preferentemente en los fosfolípidos, el *trans*-vaccénico es excluido de los ésteres de colesterol, al igual que otros isómeros. Por lo general, los ácidos grasos *trans* tienen una fuerte preferencia por ser incorporados en las mismas posiciones que lo hacen los ácidos grasos saturados, aunque existen significativas discriminaciones en contra de la incorporación para algunos isómeros (NORUM *et al.*, 1989). La incorporación de estos isómeros se produce con un concomitante descenso de los ácidos grasos a los que sustituyen (SUGANO *et al.*, 1984).

Pero las tasas que gobiernan estos procesos, además de las proporciones en la dieta de los mismos, dependen de la posición, tipo y número de los dobles enlaces (PRIVETT *et al.*, 1966; HOLMAN *et al.*, 1983;; EMKEN, 1984 WOLFF *et al.*, 1985, 1993; BEYERS y EMKEN, 1991; FUKUDA *et al.*, 1993), en ausencia de ácidos grasos esenciales los diferentes isómeros y sus productos compiten por las mismas posiciones que estos, en su incorporación en las diferentes fracciones lipídicas (GOTTENBOS, 1983; HOUTSMULLER, 1978). Por lo que se puede afirmar que cada isómero posee un efecto diferente, sobre la composición en ácidos grasos de los distintos lípidos séricos y tisulares (EMKEN, 1984; HOLMAN *et al.*, 1991).

Algunos autores indican que estos estudios no conducen a interpretaciones directas por sí mismos de cómo afectan la amplia variedad de isómeros a las distintas fracciones lipídicas; no suministran una información útil sobre sus preferenciales incorporaciones, su recambio y a una predicción a largo plazo de sus efectos. Bajo condiciones de una carga normal en la dieta de estos isómeros no naturales, sistemas endógenos que pueden estar presentes normalmente, tendrían la capacidad de sustituir de una forma selectiva a estos ácidos grasos y prevenir cualesquiera de sus efectos. Sin embargo, un defecto o una efectividad enzimática marginal en estos sistemas de sustitución o una sobrecarga dietaria de estos isómeros, podría producir efectos indeseables (WOOD, 1992).

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1-DISEÑO EXPERIMENTAL

El estudio de la influencia del tipo y proporción de distintos azúcares sencillos y de diferentes tipos de grasas, sobre diversos aspectos del funcionamiento hepático y del metabolismo de los lípidos, se realizó mediante la utilización de 18 dietas experimentales (Tablas 2 y 3), en las que únicamente se modificaban la fuente y la cantidad de glúcido y/o lípido.

El diseño experimental consta de tres bloques experimentales:

BLOQUE EXPERIMENTAL I: tuvo como objetivo estudiar la influencia del tipo de glúcido y la proporción de energía de los mismos en la dieta. Para lo cual se compararon los resultados obtenidos con las dietas en las que se variaban el tipo de carbohidrato y la proporción del mismo, así como el tipo de grasa (modelos **A, B, C, D y E** en la tabla 2)

BLOQUE EXPERIMENTAL II: en el que se estudió la influencia del origen de la energía comparándose las dietas de los modelos **D, E y F** (tablas 2 y 3), en las que se modificaba la proporción y el origen de la energía.

BLOQUE EXPERIMENTAL III: su objetivo fue estudiar la influencia del tipo de la fuente lipídica y se realizó mediante la comparación de los resultados obtenidos con las dietas de los modelos **A y F** (tablas 2 y 3), en las que únicamente se variaban el tipo o la cantidad de la grasa de las mismas.

TABLA 2. Diseño de las dietas del modelo experimental.

	ACEITE DE OLIVA 4% O4 (1)*	MARGARINA 4% M4 (2)*	ACEITE DE PALMISTE HIDROGENADO 4% P4 (3)*	MODELO DE DIETA
SACAROSA 10% S10 (1)*	S10O4 (1 1)	S10M4 (1 2)	S10P4 (1 3)	A
FRUCTOSA 10% F10 (2)*	F10O4 (2 1)	F10M4 (2 2)	F10P4 (2 3)	B
GLUCOSA 10% G10 (3)*	G10O4 (3 1)	G10M4 (3 2)	G10P4 (3 3)	C
SACAROSA 30% S30 (4)*	S30O4 (4 1)	S30M4 (4 2)	S30P4 (4 3)	D
GLUCOSA 15% FRUCTOSA 15% (GF30 (5)*	GF30O4 (5 1)	GF30M4 (5 2)	GF30P4 (5 3)	E

TABLA 3. Diseño de las dietas del modelo experimental.

	ACEITE DE OLIVA 13% O13 (4)*	MARGARINA 13% M13 (5)*	ACEITE DE PALMISTE HIDROGENADO 13% P13 (6)*	MODELO DE DIETA
SACAROSA 10% S10 (1)*	S10O13 (1 4)	S10M13 (1 5)	S10P13 (1 6)	F

* Los números entre paréntesis corresponden a la nomenclatura utilizada en el análisis estadístico.

3.2.- ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN:

Se han utilizado 180 ratas de la raza Wistar, procedentes del criadero del Departamento de Fisiología y Farmacología y del estabulario de la Universidad de Murcia, de ambos sexos, de $149,47 \pm 9,93$ g de peso corporal, seleccionadas al azar entre las de peso más homogéneo. Divididas en lotes de 10 animales.

3.2.1.- DESARROLLO DE LOS EXPERIMENTOS:

Los animales de cada lote (5♂ y 5♀), se alojaron en células individuales de metabolismo, que permiten el control de la ingesta y la recogida por separado de las excretas. En todos los experimentos, los animales tuvieron libre acceso al alimento y al agua.

Estas células metabólicas se ubicaron en una cámara acondicionada a temperatura ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), humedad relativa (50%-70%) y fotoperiodo (L:O 12:12) constantes.

La duración de los experimentos fue de 24 días, divididos en dos periodos: uno inicial de 3 días de duración, en el cual los animales se adaptaban al medio, células y dieta, y otro principal de 21 días, en el que se controló el alimento ingerido cada 3 ó 4 días y el peso de las ratas semanalmente.

Al término del período principal, los animales son pesados y sometidos a la manipulación quirúrgica, que se realizó por la mañana tras 12 horas de ayuno.

Manipulación quirúrgica: Una vez anestesiado el animal con pentotal sódico (53 mg/Kg de peso corporal), se obtuvieron las muestras de sangre mediante jeringuillas heparinizadas por punción cardíaca, e inmediatamente centrifugadas y se recogió el plasma para su posterior análisis. A continuación se extrajo el hígado para su análisis químico e histológico.

3.3.- DIETAS EXPERIMENTALES

3.3.1- COMPOSICIÓN Y AJUSTE DE LAS DIETAS:

Ingredientes

Durante el desarrollo de los experimentos se suministró a los animales dietas semisintéticas elaboradas a base de:

- Almidón de maíz (Levantina Agrícola Industrial S.A.)
- Sacarosa (PANREAC)
- D-Fructosa (PANREAC)
- D-Glucosa anhidra (PANREAC)
- Aceite de oliva (MANZANO)
- Margarina comercial (FLORA)
- Aceite de palmiste hidrogenado (GRACOM, S.A.)
- Celulosa micronizada (AVICEL)
- Vitamina A+D hidrosoluble (biominol, ALTER S.A.)
- Complemento mineral
- Complemento vitamínico
- Como fuente proteica de las dietas se utilizó caseinato sódico (SCERMA), suplementado con un 5% de D,L-metionina (MERCK).

La composición en sustancia seca de la dieta base se ajustó al modelo descrito por THOMAS-MITCHELL, que se indica a continuación:

PROTEÍNA	10%
GRASA	4%
FIBRA	8%
SACAROSA	10%
COMPLEMENTO MINERAL	5%
COMPLEMENTO VITAMÍNICO	5%
ALMIDÓN c.s.p.	100%

En la que se fueron estableciendo los cambios pertinentes para obtener cada una de las dietas experimentales como se muestra en las tablas 4, 5 y 6.

TABLA 4. Composición porcentual de materias primas de las dietas elaboradas con aceite de oliva.

INGREDIENTES (% S.S.)	DIETAS					
	S1004	F1004	G1004	S3004	GF3004	S10013
PROTEÍNA	10	10	10	10	10	10
GRASA	4	4	4	4	4	13
C. VITAMÍNICO	5	5	5	5	5	5
C. MINERAL	5	5	5	5	5	5
FIBRA	8	8	8	8	8	8
SACAROSA	10	0	0	30	0	10
GLUCOSA	0	0	10	0	15	0
FRUCTOSA	0	10	0	0	15	0
ALMIDÓN	58	58	58	38	38	49

TABLA 5. Composición porcentual de materias primas de las dietas elaboradas con margarina

INGREDIENTES (% S.S.)	DIETAS					
	S10M4	F10M4	G10M4	S30M4	GF30M4	S10M13
PROTEÍNA	10	10	10	10	10	10
GRASA	4	4	4	4	4	13
C. VITAMÍNICO	5	5	5	5	5	5
C. MINERAL	5	5	5	5	5	5
FIBRA	8	8	8	8	8	8
SACAROSA	10	0	0	30	0	10
GLUCOSA	0	0	10	0	15	0
FRUCTOSA	0	10	0	0	15	0
ALMIDÓN	58	58	58	38	38	49

TABLA 6. Composición porcentual de materias primas de las dietas elaboradas con aceite de palmiste hidrogenado.

INGREDIENTES (% S.S.)	DIETAS					
	S10P4	F10P4	G10P4	S30P4	GF30P4	S10P13
PROTEÍNA	10	10	10	10	10	10
GRASA	4	4	4	4	4	13
C. VITAMÍNICO	5	5	5	5	5	5
C. MINERAL	5	5	5	5	5	5
FIBRA	8	8	8	8	8	8
SACAROSA	10	0	0	30	0	10
GLUCOSA	0	0	10	0	15	0
FRUCTOSA	0	10	0	0	15	0
ALMIDÓN	58	58	58	38	38	49

Complemento vitamínico

La composición del complemento vitamínico empleado en la elaboración de las dietas fue la siguiente:

Complemento vitamínico

Niacina	6,5 g
Tiamina (B ₁)	1,5 g
Pantotenato cálcico	0,9 g
Piridoxina (B ₆)	0,6 g
Riboflavina (B ₂)	0,6 g
Almidón de maíz (c.s.p.)	1000 g

Las vitaminas A y D se añaden a la dieta en forma líquida, junto a la grasa o el aceite, en las siguientes proporciones: 28,8 y 7,2 mg/Kg de dieta respectivamente.

Complemento mineral

El complemento mineral utilizado en la elaboración de las dietas experimentales se ajustó a la siguiente composición :

Complemento mineral		
PO ₄ HCa	143,0 g
CO ₃ HK	109,8 g
CO ₃ Ca	77,0 g
ClNa	55,0 g
PO ₄ HK ₂	36,0 g
CO ₃ Mg	19,0 g
SO ₄ Fe	4,650 g
SO ₄ Mn	0,590 g
IK	0,300 g
SO ₄ Cu	0,080 g
(SO ₄) ₂ AlK	0,040 g
Cl ₂ Ca	0,040 g
CO ₃ Zn	0,020 g
FNa	0,004 g

Composición en ácidos grasos de las fuentes lipídicas

El análisis cromatográfico de las fuentes de lípidos utilizadas, revelo las composiciones en ácidos grasos que se muestran en las tabla 7.

TABLA 7. Composición en ácidos grasos de las fuentes lipídicas.

Ácidos grasos %	Aceite de oliva	Margarina	Aceite de palmiste hidrogenado
C8:0	----	0,387	2,445
C10:0	----	0,415	2,644
C12:0	----	7,022	44,388
C14:0	----	2,641	14,534
C16:0	9,612	26,217	10,078
C16:1 ω 7	0,522	----	----
C18:0	2,703	4,920	18,04
C18:1 ω 9	77,45	32,698	6,794
C18:2 ω 6	5,996	23,295	0,269
C18:3 ω 3	2,5107	2,152	0,305
C20:1 ω 9	0,335	0,097	----
C20:4 ω 6	----	0,152	----
C22:1 ω 9	0,292	----	0,184
C22:4 ω 6	0,578	----	0,318
%	Aceite de oliva	Margarina	Aceite de palmiste hidrogenado
Saturados	12,315	41,602	92,129
Monoinsaturados	78,599	32,795	6,978
Poliinsaturados	9,0847	25,599	0,892
Total w6	6,574	23,447	0,587
Total w3	2,5107	2,152	0,305

3.3.2.- COMPOSICIÓN PORCENTUAL EN MACRONUTRIENTES DE LAS DIETAS

La composición en macronutrientes de las dietas elaboradas se presenta en la Tabla 8.

TABLA 8. Composición porcentual de macronutrientes (% sustancia seca) de las dietas experimentales.

DIETA	MATERIA SECA	PROTEÍNA	GRASA	FIBRA BRUTA	CENIZAS	MELN	Kcal/100g
S10O4	92,25	9,88	4,57	6,62	4,59	74,34	378,99
S10M4	90,34	10,36	4,57	7,67	4,95	72,45	373,37
S10P4	91,61	11,68	4,74	7,78	5,39	70,41	372,16
F10O4	89,99	9,88	4,48	7,66	4,30	73,68	375,56
F10M4	89,23	10,38	4,82	8,51	5,31	70,99	369,87
F10P4	90,10	10,78	4,98	7,86	5,40	70,97	372,96
G10O4	91,22	9,99	5,04	7,59	5,04	72,35	375,69
G10M4	90,52	10,51	4,72	7,59	4,92	72,26	374,62
G10P4	93,10	10,39	4,94	8,08	5,05	71,54	373,20
S30O4	94,94	9,80	4,73	7,34	4,77	73,36	376,21
S30M4	92,81	10,06	4,68	8,10	4,83	72,32	372,68
S30P4	95,44	10,30	4,87	7,04	5,03	72,77	377,06
GF30O4	91,77	10,37	4,92	6,91	4,23	73,57	381,06
GF30M4	86,59	10,66	5,70	7,10	5,69	70,84	378,40
GF30P4	92,78	10,24	4,41	7,72	5,22	72,41	371,33
S10O13	91,64	10,24	13,64	7,23	4,32	64,57	423,02
S10M13	90,29	10,38	14,42	7,42	5,35	62,43	422,07
S10P13	93,76	10,16	13,27	6,82	5,16	64,59	419,46

3.4- CÁLCULO DE ÍNDICES BIOLÓGICOS Y BIOMÉTRICOS

Los índices biológicos y biométricos utilizados en este estudio fueron:

Relación hepatosomática (RHS)

Indica la contribución porcentual del hígado al peso total del animal.

$$\text{Relación hepatosomática} = \frac{\text{Peso del hígado}}{\text{Peso total}} \cdot 100$$

Índice de eficacia alimentaria (I.E.A.)

Expresa el aumento de peso que experimenta el animal por gramo de dieta en sustancia seca ingerido:

$$I.E.A. = \frac{\text{Incremento de peso (g)}}{\text{Alimento ingerido s.s. (g)}}$$

Coefficiente de eficacia en crecimiento (C.E.C)

Indica el aumento de peso por gramo de proteína ingerida:

$$C.E.C. = \frac{\text{Incremento de peso (g)}}{\text{Proteína ingerida (g)}}$$

3.5- TÉCNICAS ANALÍTICAS

El análisis utilizado para la determinación de la composición en macronutrientes de las materias primas, de las dietas empleadas, así como de la composición química del hígado, se realizó siguiendo las normas de la A.O.A.C. (1984) y comprende:

Determinación de humedad: El contenido en agua se determina por la pérdida de peso al desecar la muestra en estufa a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta peso constante.

Determinación de minerales totales: Las cenizas constituyen el contenido en sustancias minerales de una muestra. Se valoran por incineración en horno mufla a $450 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta peso constante.

Determinación de proteína: Según el método de KJELDAHL.

Primeramente se ataca la muestra (1 ó 2 g) con 25 ml de ácido sulfúrico concentrado, añadiendo como catalizador una mezcla formada por sulfato de potasio (5 g), sulfato cúprico (0.3 g) y selenio (0.01 g). Se calienta hasta su transformación en una solución transparente, a continuación se destila por arrastre de vapor, después de añadir hidróxido sódico (30%). El destilado se recoge sobre ácido bórico al 4% y se valora con ácido clorhídrico 0,5 N mediante un indicador (rojo de metilo y verde de bromocresol).

La cantidad de proteína se obtiene multiplicando la cantidad de nitrógeno por 6,25, ya que se considera que la proteína contiene un 16% de nitrógeno.

Determinación de grasa: Las sustancias grasas o extracto etéreo se valoran mediante el método SOXHLET, utilizando éter etílico como disolvente. La extracción se realizó en continuo, en un Soxtec System HT (Tecator), tras unos minutos se evapora el extracto hasta sequedad y se pesa el residuo.

Determinación de fibra: Se consideran fibra bruta aquellas sustancias no nitrogenadas, que no se disuelven al hervir la muestra con ácidos o álcalis diluidos, y posteriormente tampoco en disolventes orgánicos. Son una mezcla de celulosa, pentosano, lignina y quitina.

Se determina por el método de WENDE, empleando como reactivos ácido sulfúrico (1,25%), hidróxido de potasio (1,25%) y acetona. La placa filtrante con el residuo es desecada ($105 \pm 1^\circ\text{C}$) y una vez fría se pesa. Este residuo está formado por cenizas y fibra bruta. Posteriormente es incinerada ($450 \pm 2^\circ\text{C}$) y se pesa de nuevo, la diferencia entre la primera pesada y la segunda constituye la cantidad de fibra bruta.

Determinación de M.E.L.N.: El porcentaje de materia extractiva libre de nitrógeno (MELN), se determinó por diferencia hasta 100 de la suma de porcentajes del resto de los componentes.

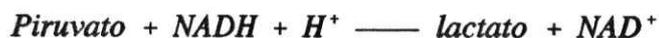
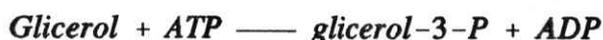
Determinaciones plasmáticas: La sangre se extrajo por punción cardiaca con jeringuillas heparinizadas, transfiriéndose a tubos de centrifuga tipo "Eppendorf" heparinizados, donde se centrifuga a 3.500 r.p.m. durante 10

minutos en una centrífuga de mesa (Heraeus-Biofuge A).

El plasma, una vez separado de la fracción celular, se congeló a -20°C hasta el momento de su análisis.

Determinación de triglicéridos: Se ha utilizado un test enzimático-colorimétrico (Boehringer Mannheim), adaptado a un autoanalizador Hitachi 704, basado en el método de SCETTLER y NUSSEL, modificado según WAHLEFELD (1974).

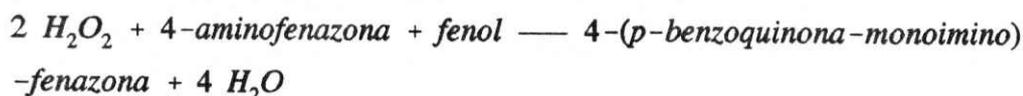
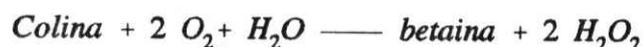
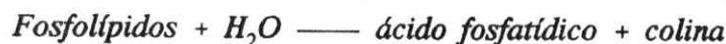
Los triglicéridos en plasma son hidrolizados por la acción de dos enzimas, lipasa y esterasa, a glicerol y ácidos grasos. El glicerol en presencia de ATP y glicerol quinasa es transformado en glicerol-3-fosfato y se forma ADP que junto con fosfoenolpirúvico y por la acción de la piruvato quinasa, da lugar a piruvato y ATP. El piruvato formado, en presencia de NADH y H^+ , por la acción del enzima láctico deshidrogenasa, da lugar a L-lactato y NAD^+ . Finalmente se mide la cantidad de NAD^+ formado en un espectrofotómetro a 340nm, siendo su absorbancia proporcional a la concentración de triglicéridos.



Determinación de fosfolípidos: En la determinación de fosfolípidos plasmáticos se ha utilizado un test enzimático-colorimétrico (Boehringer Mannheim), adaptado a un autoanalizador Hitachi 704, basado en el método de TAKAYAMA *et al.* (1977).

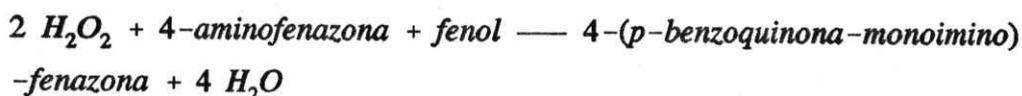
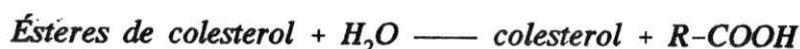
Los fosfolípidos plasmáticos (lecitina, lisolecitina y esfingomielina) en presencia de fosfolipasa D se hidrolizan dando lugar a colina y ácido fosfatídico, lisofosfatídico, etc. La oxidación de la colina en presencia de colina oxidasa da lugar a betaina y peróxido de hidrógeno. Este peróxido junto con 4-amino-fenazona y fenol, en presencia de una peroxidasa, forma 4-(p-benzoquinina-monoimino)-fenazona y agua. Tras el período de incubación correspondiente se mide la absorbancia a 500nm frente al blanco, siendo proporcional a la

concentración de fosfolípidos.



Determinación de colesterol: Según el test enzimático colorimétrico "HiCo Colesterol (CHOL)" (Boehringer-Mannheim), basado en el método CHOD-PAP de TRINDER (1969), SIEDEL *et al.* (1981) y adaptado al autoanalizador Hitachi 704.

Los ésteres de colesterol en medio acuoso y por la acción de la colesterol esterasa, son hidrolizados a colesterol y ácidos grasos. La oxidación del colesterol, en presencia de colesterol oxidasa, da lugar a la formación de 4-colesterona y peróxido de hidrógeno. Este último, junto con la 4-aminofenazona y el fenol, en presencia de peroxidasa, forma 4-(p-benzoquinona-monimino)-fenazona y agua. La absorbancia de este pigmento final, medida a 505nm, es proporcional a la concentración de colesterol.



Determinación de HDL-colesterol: Igualmente se utilizó un test enzimático-colorimétrico (Boehringer Mannheim), adaptado a un autoanalizador Hitachi 704, basado en el método LOPES-VIRELLA *et al.* (1977).

La adición de ácido fosfotúngstico e iones magnesio a la muestra provoca la precipitación de los quilomicrones, las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y las lipoproteínas de baja densidad (LDL). El sobrenadante de la centrifugación contiene las HDL, cuya concentración de colesterol es determinada enzimáticamente.

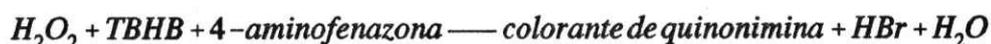
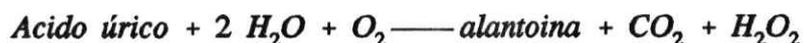
Determinación de proteínas totales: Según el test "HiCo Proteínas totales (TP)" (Boehringer-Mannheim), adaptado al autoanalizador Hitachi 704.

Dicho test, se basa en el método de biuret WEICHSELBAUM (1946), según el cual, en disolución alcalina, las proteínas forman con los iones de cobre un complejo coloreado.



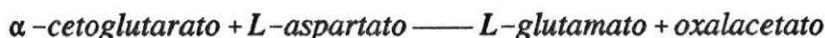
Determinación de ácido úrico: Por el test colorimétrico enzimático de la uricasa "Ácido úrico (PAP)", (Boehringer-Mannheim), según el método de TOWM *et al.* (1985), adaptado al autoanalizador Hitachi 704.

En medio acuoso y en presencia de la uricasa, el ácido úrico se hidroliza en alantoina, CO_2 y H_2O_2 . Este peróxido de hidrógeno formado, con el 2,4,6-tribromo-3-ácido hidroxibenzoico (TBHB) y la 4-aminofenazona, por la acción de la peroxidasa, se utiliza para formar el colorante de quinonimina, siendo la cantidad de colorante formada proporcional a la concentración inicial de ácido úrico.

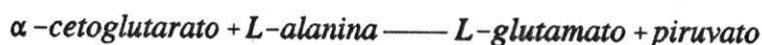


Determinación de la actividad de aspartato aminotransferasa (AST):

La medida de la enzima aspartato aminotransferasa se realizó mediante un kit (Boehringer Mannheim), adaptado al autoanalizador Hitachi 704, siguiendo el método utilizado por BERGMAYER *et al.* (1986), en el que se acopla la reacción catalizada por la enzima AST a la reducción del oxalacetato por la malato deshidrogenasa añadida en exceso al medio de reacción, registrándose la oxidación del NADH^+ , según las siguientes reacciones:



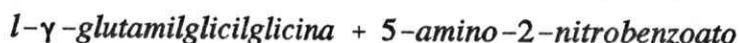
Determinación de la actividad de alanina aminotransferasa (ALT): La medida de la actividad de la enzima alanina aminotransferasa se realizó mediante un kit (Boehringer Mannheim), adaptado al autoanalizador Hitachi 704, siguiendo el método utilizado por BERGMEYER *et al.* (1986), en el que se acopla la reacción catalizada por la enzima ALT a la reducción de piruvato por la lactato deshidrogenasa añadida en exceso al medio de reacción, registrándose la oxidación de NADH^+ , según las siguientes reacciones:



Determinación de la actividad de la fosfatasa alcalina sérica (PAL): La medida de la actividad de la enzima fosfatasa alcalina se realizó mediante un kit (Boehringer Mannheim), adaptado al autoanalizador Hitachi 704, siguiendo el método utilizado por HAUSAMEN (1967), registrándose la hidrólisis del compuesto p-nitrofenilfosfato, por la acción de la fosfatasa alcalina, según la siguiente reacción:



Determinación de la actividad de la γ -glutamyltransferasa (γ -GT): La medida de la actividad de la enzima γ -glutamyltransferasa se realizó mediante un kit (Boehringer Mannheim), adaptado al autoanalizador Hitachi 704, siguiendo el método utilizado por SHAW *et al.* (1983) en el que se produce la reacción catalizada por la enzima γ -GT de la transferencia glicilglicina, añadida en exceso al medio de reacción, registrándose la formación de L- γ -glutamylglicilglicina y 5-amino-2-nitrobenzoato según las siguientes reacciones:



Extracción de los lípidos del plasma

El método empleado fue el de HAAN *et al.* (1979) ligeramente modificado. Se tomaron 0,5 ml de plasma para la determinación de la concentración de los ácidos grasos individuales de los lípidos totales y 0,7 ml para la determinación de la composición relativa de ácidos grasos como porcentajes para cada una de las fracciones plasmáticas de fosfolípidos, triacilglicéridos, ácidos grasos libres y ésteres de colesterol. En el caso de lípidos totales se adicionó al plasma 10 μ l de una disolución de ácido heptadecanoico (C17:0) en cloroformo, cuya concentración era de 2 mg/ml, de forma que se obtuviese un concentración final de 0,2 mg/ml, con el objeto de ser utilizado como patrón interno. A las muestras anteriores se adicionaron 5 ml de solución extractora cloroformo:metanol (2:1 v/v), añadiendo al cloroformo 40 mg/l de butilhidroxitolueno (BHT). A las destinadas a la determinación de los lípidos totales se añadieron 1,5 ml de ClH 0,01 N y 0,05 ml de cloruro magnésico 0,25% y a las destinadas a determinar las fracciones lipídicas, 2,1 ml de ClH 0,01 N y 0,07 ml de Cl₂Mg 0,25%. A continuación se sometieron las mezclas a agitación durante 1 minuto, en dos intervalos de 30 segundos, separados de una breve pausa. Posteriormente se procedió a la centrifugación de las mezclas a 2.500 r.p.m. durante 10 minutos a 4°C.

Las mezclas se separaron en dos fases, entre las cuales se visualiza una capa intermedia de proteínas precipitadas. La fase inferior o fase clorofórmica, que contenía los lípidos, se recogió con la ayuda de una pipeta pasteur. La fase superior o fase hidroalcohólica y la interfase proteica se sometieron a una segunda extracción con 3 ml de la solución extractora. Al igual que la primera, la extracción es facilitada por la agitación de la mezcla, tras la centrifugación en las mismas condiciones, se recoge de nuevo la fase clorofórmica. Los dos extractos orgánicos se mezclaron y fueron llevados a sequedad bajo corriente de nitrógeno a 40°C. Los lípidos extraídos se mantuvieron a -20°C en tubos cerrados herméticamente y en atmósfera de nitrógeno, hasta el momento de realizar la cromatografía en capa fina, en el caso de la determinación de las fracciones y hasta el momento de la metilación, en el caso de los lípidos totales.

Cromatografía en capa fina de los lípidos plasmáticos

Preparación de las placas

Para la preparación de las placas se utilizó un dispositivo extensor Desaga-Heidelberg, con posibilidad de regular el espesor de la capa adsorbente y placas de vidrio de 20x5 cm de superficie y 3 mm de espesor.

La capa adsorbente se preparó mezclando 45 g Silicagel G-60 con 90 ml de agua destilada, sometiendo la mezcla, en un matraz erlenmeyer con tapón esmerilado, a agitación vigorosa durante dos minutos, hasta conseguir una suspensión uniforme, libre de grumos.

Sobre el dispositivo se colocaron las placas de vidrio desengrasadas con acetona, la suspensión se colocó sobre el extensor graduado a 0,5 mm de espesor, extendiéndose rápidamente por las placas que se dejaron secar a temperatura ambiente y se colocaron en un soporte metálico.

La activación de las placas se logró introduciéndolas en una estufa a 110°C durante 1 hora y 30 minutos, pasado este tiempo se colocaron en un desecador hasta el momento de ser utilizadas.

Aplicación de la muestra

Para la separación cromatográfica de los lípidos totales la aplicación de la muestra se realizó disolviendo el extracto lipídico desecado en 100 μ l de cloroformo en un baño de hielo fundente. La disolución clorofórmica fue aplicada en forma de pequeñas gotas en disposición horizontal, a 1,5 cm del borde inferior y a 1 cm aproximadamente de los bordes laterales de la placa.

Desarrollo cromatográfico y revelado

Para la cromatografía de los lípidos totales se siguió el método de SKIPSKI y BARCLAY (1969), modificando la fase móvil, cuya composición fue: hexano: éter etílico: ácido acético (80:20:1), adicionando 250 mg/l de BHT al hexano como antioxidante.

El desarrollo cromatográfico se realizó en una cubeta cromatográfica de

vidrio de 56x56x10 cm, con tapadera de vidrio ajustada a esmeril, preparada con este líquido de desarrollo. Para la saturación de la campana se dejó transcurrir un período de dos horas, facilitando la misma el introducir dos tiras de papel de filtro perfectamente adheridas a las paredes.

Una vez saturadas las campanas, se introdujeron las placas, con el origen hacia abajo, y dispuestas lo más verticalmente posible para facilitar el ascenso de la fase móvil. Una vez completado el desarrollo (40 minutos) se sacaron las placas y se dejaron secar a temperatura ambiente.

El revelado de las placas se realizó introduciendo estas, secas, en una campana saturada con vapores de yodo. A los pocos instantes se observó la aparición de las típicas manchas de coloración parda, correspondientes a las distintas fracciones de los lípidos plasmáticos, que se identificaron según su R_f o factor de retardo.

Las fracciones que se obtuvieron del plasma fueron:

Fosfolípidos (PL)	R_f 0,000
Ácidos grasos libres (AGL)	R_f 0,300
Triacilglicéridos (TG)	R_f 0,525
Ésteres de colesterol (EC)	R_f 0,600

Cada una de las fracciones se delimitó y una vez eliminado el yodo se procedió a su raspado, conservándose en tubos de vidrio herméticamente cerrados, en atmósfera inerte y a una temperatura de -20°C hasta su metilación.

Transesterificación y Metilación de ácidos grasos

Para la obtención de los ésteres metílicos de los ácidos grasos la metodología seguida, tanto para las fracciones lipídicas procedentes de la cromatografía en capa fina como para los lípidos totales, ha sido descrita por MORRISON y SMITH (1964) utilizando el trifloruro de boro en metanol al 14%, como agente encargado de efectuar la saponificación de los lípidos y la posterior de los ácidos grasos.

A cada uno de los tubos que contenían las muestras a metilar, se le adicionó, bajo atmósfera de nitrógeno durante 45 a 60 segundos, 1 ml del reactivo. Los tubos se cerraron herméticamente y se llevaron a un baño a temperatura de ebullición durante 10 minutos.

Pasado este tiempo se sacaron los tubos y una vez fríos, se les añadió 2 ml de n-hexano y 1 ml de agua destilada. Se agitaron 1 minuto en dos intervalos de 30 segundos y se centrifugaron a 2.500 r.p.m. durante 10 minutos. De esta forma, los ésteres de los ácidos grasos formados, pasaron de la fase acuosa a la fase orgánica superior, recogándose esta última con ayuda de una pipeta pasteur. A la fase acuosa se le añadió 1 ml de n-hexano y se hizo una reextracción en las mismas condiciones. La nueva fase superior, se recogió y mezcló con la anterior. Posteriormente, la fase orgánica se llevó a sequedad bajo corriente de nitrógeno a 40°C y las muestras desecadas y perfectamente cerradas se conservaron a -20°C hasta el momento de ser analizadas por cromatografía gas-líquido.

Cromatografía gas-líquido

Para el análisis cromatográfico se ha utilizado una columna de WIDE-BORE-CAPILLARY de 30 m de longitud, 0,75 mm de diámetro interno, con una fase estacionaria SP-2330 de 0,2 μm de espesor; instalada en un cromatógrafo HEWLETT-PACKARD modelo 5890 con un detector de ionización de llama.

La muestra a analizar fue disuelta en 100 μl de hexano y se inyectó en el cromatógrafo con ayuda de una microjeringa. Las condiciones de trabajo fueron perfectamente normalizadas, fijándose los flujos de :

Nitrógeno	5 ml/minuto
Hidrógeno	30 ml/minuto
Aire	400 ml/minuto

El programa de temperatura empleado fue el siguiente: una temperatura inicial de 90°C que se mantuvo durante 5 minutos, a partir de la cual se aumentó a razón de 10°C/minuto hasta 150°C, un posterior aumento a razón de 3°C/minuto hasta una temperatura final de 211°C, volviendo posteriormente a la

temperatura inicial a una velocidad de 15°C/minuto.

Para la identificación de los ácidos grasos se utilizó un patrón consistente en una disolución en hexano de los siguientes ácidos grasos, cuya composición se muestra en la tabla 9.

TABLA 9. Composición del patrón de ácidos grasos utilizado en la cuantificación de los mismos.

Ácidos grasos	Concentración (mg/ml)
C8:0	0,0784
C10:0	0,0806
C12:0	0,0802
C14:0	0,0812
C16:0	0,1604
C16:1 ω 7	0,1000
C17:0	0,1738
C18:0	0,0800
C18:1 ω 9	0,1816
C18:2 ω 6	0,0800
C18:3 ω 6	0,1000
C18:3 ω 3	0,0800
C20:1 ω 9	0,0992
C18:4 ω 3	0,0800
C20:2 ω 6	0,1000
C20:3 ω 6	0,0800
C20:4 ω 6	0,0800
C22:1 ω 9	0,0992
C20:5 ω 3	0,0800
C22:4 ω 6	0,1000
C22:6 ω 3	0,0800

La concentración total de cada ácido graso en el plasma se obtiene mediante la expresión:

$$C_i(\text{mg/ml}) = \frac{F_i \cdot A_i}{F_{e_i} \cdot A_{e_i}} \cdot C_{e_i}$$

En la determinación de los porcentajes de ácidos grasos de cada una de las fracciones lipídicas plasmáticas se utilizó el procedimiento de normalización, usando la siguiente expresión:

$$\% C_i = \frac{F_i \cdot A_i}{\sum F_i \cdot A_i} \cdot 100$$

- C_i = concentración del ácido graso i
 F_i = factor de respuesta del ácido graso i
 A_i = área del ácido graso i
 C_{e_i} = concentración del estándar interno
 F_{e_i} = factor de respuesta del estándar interno
 A_{e_i} = área del estándar interno

3.6- PROCESAMIENTO PARA MICROSCOPIA ÓPTICA

Los hígados extraídos de los animales fueron fragmentados, y los fragmentos destinados al estudio histológico se dividieron en dos grupos y se fijaron respectivamente por medio de:

I) **Solución de Bouin.** Los fragmentos después del período de fijación, se deshidrataron e incluyeron en paraplast-plus (Sherwood). Sobre los bloques obtenidos se realizaron cortes de 4 μm de espesor con un microtomo de deslizamiento LEITZ. A continuación los cortes fueron desparafinados con xilol, rehidratados y teñidos según las siguientes técnicas:

1) **Hematoxilina-Eosina HANSEN (1895)**, para observar la estructura hepática.

Técnica:

- Se tratan los cortes con hematoxilina de Hansen durante 5 minutos.
- Lavado en agua corriente.

- Eosina al 0,5% en agua destilada 20 segundos.
- Lavado en agua corriente.
- Deshidratar, aclarar y montar.

Reactivos:

- Hematoxilina de Hansen: Se disuelve 1 g de hematoxilina en 100 ml de agua destilada caliente y 20 g de alumbre potásico en 200 ml. de agua destilada caliente. Al día siguiente se mezclan las dos soluciones y se les añade 0,177 g de permanganato potásico. La mezcla se lleva a ebullición y se mantiene hirviendo 1 minuto. Se deja enfriar antes de filtrar.

2) P.A.S. McMANUS (1948), para la observación de mucopolisacáridos.

Técnica:

- Se tratan los cortes con solución acuosa de ácido peryódico al 0,5% durante 5 minutos.
- Lavado en agua corriente.
- Leucofuchina de SCHIFF durante 10 minutos.
- Lavado en agua destilada.
- Solución acuosa de bisulfito sódico al 2% durante 5 minutos.
- Lavado en agua corriente.
- Hematoxilina de Mayer durante 4 minutos.
- Deshidratar en alcohol y aclarar en xilol.

Reactivos:

- Leucofuchina de SCHIFS

Fuchina básica en cristales	1 g
Agua destilada	200 ml
Bisulfito sódico al 40%	5 ml
Ácido clorhídrico concentrado	1 ml

3) Azul de toluidina (MANOCCHIO, 1960), Para comprobar la porción de hígado que se había incluido en cada bloque y selección de aquellos bloques para realizar las técnicas histoquímicas. Además para comprobar la existencia de lesión celular (MONTE *et al.*, 1993).

Técnica:

- Teñido con azul de toluidina durante 1 minuto.
- Lavado con agua corriente.
- Montar.

Reactivos:

Agua destilada	50 ml
Tetraborato	0,50 g
Azul de toluidina	0,25 g

- Disolver y filtrar.

4) **Tricrómico de Mallory MALLORY (1938)**, para observar las fibras del tejido conjuntivo.

Las preparaciones de hígado destinadas a esta técnica, fueron tratadas con Lugol durante 5 minutos y, a continuación, con una disolución de hiposulfito sódico al 5% en agua destilada. Posteriormente, se tiñeron en una disolución de fucsina ácida al 0,5% durante 5 minutos y se colocaron en una mezcla compleja formada por Azul de anilina, Orange G y ácido fosfotúngstico. Después de la coloración, las muestras se lavaron, deshidrataron con alcohol y montaron en DPX medio de montaje.

II) **Solución de formol al 10%**. Se completó el estudio microscópico mediante las observaciones de cortes tras congelación, obtenidos a partir de muestras fijadas de este segundo modo, posteriormente sumergidas en alcohol de 70° y teñidas según la técnica de Sudan III (LILLIE, 1965), específica para lípidos, y que se describe a continuación:

- Se tratan los cortes con solución de HERXHEIMER durante 5 minutos.
- Se sumergen en alcohol de 70° repetidamente, hasta que no pierdan más colorante.
- Lavado en agua destilada.

Reactivos:**Solución de HERXHEIMER:**

Sudan III	1 g
Alcohol de 70°	50 ml
Acetona	50 ml

Las preparaciones obtenidas mediante la aplicación de las técnicas anteriores fueron observadas y fotografiadas en un fotomicroscopio Leitz Orthoplan utilizando para la obtención de imágenes películas Agfachrome 50 RS.

3.7.- TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Para el tratamiento estadístico de los resultados, se aplicó a los mismos la técnica de análisis de la varianza (ANOVA) multifactorial.

El nivel de significación utilizado ha sido $\alpha=0,05$.

Posteriormente al análisis de la varianza, de las variables de interés se utilizó el test de Tukey de comparación de pares de medias con un nivel de significación de $\alpha=0,05$, para determinar los grupos significativamente distintos entre sí (LUDBROOK, 1991). Los análisis estadísticos se hicieron conforme al diseño experimental expuesto en las tablas 2 y 3. Se ha utilizado una nomenclatura específica y se han comparado los resultados de las variables a estudiar, de las distintas dietas ensayadas, tal y como están incluidas en los correspondientes bloques experimentales.

4.- RESULTADOS

TABLA 10. Crecimiento e ingesta en los distintos experimentos. Los datos se expresan como media aritmética \pm EEM.

DIETA	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Δ Peso/día (g/día)	Proteína ingerida SS (g/día)	Proteína ingerida/100 g de peso SS	Ingesta/día SS (g/día)	Ingesta/100g de peso SS	Ingesta diaria calórica/100 g de peso
S10 O4	150,29 \pm 2,03	218,47 \pm 4,76	3,13 \pm 0,21	1,62 \pm 0,04	0,88 \pm 0,01	16,43 \pm 0,37	8,91 \pm 0,16	33,78 \pm 0,59
S10 M4	152,26 \pm 2,09	208,96 \pm 8,26	2,70 \pm 0,37	1,57 \pm 0,06	0,87 \pm 0,02	15,24 \pm 0,56	8,43 \pm 0,18	31,47 \pm 0,69
S10 P4	146,66 \pm 2,04	217,87 \pm 7,07	3,24 \pm 0,24	2,00 \pm 0,09	1,09 \pm 0,04	17,10 \pm 0,73	9,38 \pm 0,33	34,91 \pm 1,24
F10 O4	157,64 \pm 2,81	225,80 \pm 9,80	3,10 \pm 0,33	1,60 \pm 0,05	0,83 \pm 0,02	16,23 \pm 0,53	8,49 \pm 0,20	31,87 \pm 0,74
F10 M4	140,43 \pm 2,22	209,30 \pm 10,39	3,13 \pm 0,44	1,59 \pm 0,07	0,90 \pm 0,01	15,31 \pm 0,67	8,73 \pm 0,15	32,31 \pm 0,57
F10 P4	144,37 \pm 1,38	213,99 \pm 5,73	3,03 \pm 0,20	1,78 \pm 0,06	0,99 \pm 0,04	16,47 \pm 0,58	9,21 \pm 0,34	34,35 \pm 1,25
G10 O4	138,47 \pm 2,35	202,22 \pm 7,00	3,04 \pm 0,29	1,57 \pm 0,04	0,92 \pm 0,02	15,72 \pm 0,37	9,25 \pm 0,18	34,74 \pm 0,68
G10 M4	148,71 \pm 1,92	219,00 \pm 8,32	3,35 \pm 0,43	1,81 \pm 0,08	0,98 \pm 0,02	17,20 \pm 0,73	9,33 \pm 0,24	34,97 \pm 0,89
G10 P4	150,56 \pm 1,95	207,01 \pm 6,55	2,69 \pm 0,32	1,63 \pm 0,04	0,91 \pm 0,02	15,72 \pm 0,42	8,81 \pm 0,24	32,87 \pm 0,91
S30 O4	151,21 \pm 3,04	207,23 \pm 8,76	2,55 \pm 0,30	1,43 \pm 0,06	0,80 \pm 0,02	14,61 \pm 0,64	8,15 \pm 0,25	30,66 \pm 0,94
S30 M4	169,12 \pm 1,98	226,13 \pm 9,54	2,59 \pm 0,38	1,61 \pm 0,06	0,81 \pm 0,01	16,03 \pm 0,63	8,10 \pm 0,13	30,17 \pm 0,50
S30 P4	149,93 \pm 1,67	206,04 \pm 6,05	2,67 \pm 0,30	1,56 \pm 0,05	0,87 \pm 0,02	15,11 \pm 0,53	8,48 \pm 0,24	31,98 \pm 0,90
GF30 O4	144,01 \pm 1,90	205,83 \pm 5,54	2,84 \pm 0,26	1,67 \pm 0,06	0,96 \pm 0,03	16,13 \pm 0,56	9,23 \pm 0,31	35,17 \pm 1,19
GF30 M4	142,95 \pm 2,73	217,86 \pm 11,11	3,57 \pm 0,45	1,68 \pm 0,07	0,93 \pm 0,02	15,71 \pm 0,63	8,71 \pm 0,18	32,97 \pm 0,69
GF30 P4	151,03 \pm 1,99	210,87 \pm 7,99	2,85 \pm 0,42	1,59 \pm 0,08	0,88 \pm 0,04	15,55 \pm 0,81	8,58 \pm 0,37	31,84 \pm 1,37
S10 O13	153,08 \pm 2,35	218,45 \pm 5,83	3,11 \pm 0,31	1,55 \pm 0,03	0,83 \pm 0,01	15,11 \pm 0,34	8,13 \pm 0,13	34,41 \pm 0,55
S10 M13	154,11 \pm 2,18	230,55 \pm 10,67	3,47 \pm 0,41	1,57 \pm 0,04	0,82 \pm 0,02	15,11 \pm 0,39	7,89 \pm 0,18	33,29 \pm 0,75
S10 P13	147,65 \pm 2,19	206,51 \pm 7,51	2,80 \pm 0,40	1,38 \pm 0,07	0,77 \pm 0,03	13,58 \pm 0,68	7,64 \pm 0,28	32,06 \pm 1,18



Bloque experimental I**TABLA 10.1.** Análisis de varianza de Δ Peso/día.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	4,6876	1,1719	2,88	0,0255
GRASA (B)	2	1,2081	6,0404E-01	1,48	0,2295
SEXO (C)	1	89,916	89,916	220,88	0,0000
B*C	2	4,8784	2,4392	5,99	0,0035
A*B	8	6,6836	8,3545E-01	2,05	0,0459
A*C	4	3,7595	9,3989E-01	2,31	0,0612
A*B*C	8	2,4063	3,0078E-01	0,74	0,6584
RESIDUAL	117	47,629	4,0708E-01		

TABLA 10.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	3,123	I
2	3,085	I I
3	3,064	I I
1	3,021	I I
4	2,639	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$ **TABLA 10.1.2.** Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	3,113	I
1	2,930	I
3	2,917	I

Nivel de significación $p < 0,05$ **TABLA 10.2.** Análisis de varianza de la proteína ingerida/día.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	0.60895	0.15224	5.00	0.0010
GRASA (B)	2	0.44669	0.22334	7.34	0.0011
SEXO (C)	1	0.33481	0.33481	11.00	0.0012
A*B	8	1.42219	0.17777	5.84	0.0000
B*C	2	0.72836	0.36418	11.96	0.0000
A*C	4	0.16887	0.04222	1.39	0.2418
A*B*C	8	0.22498	0.02812	0.92	0.5004
RESIDUAL	117	3.56189	0.03044		



TABLA 10.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proteína ingerida/día por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	1.7331	I
3	1.6772	I
2	1.6562	I I
5	1.6502	I I
4	1.5377	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.2.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proteína ingerida/día por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	1.7130	I
2	1.6595	I I
1	1.5801	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.3. Análisis de varianza de la proteína ingerida/día por 100g de peso.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	0.27926	0.06982	14.81	0.0001
GRASA (B)	2	0.13446	0.06723	14.27	0.0001
SEXO (C)	1	0.07707	0.07707	16.35	0.0001
A*B	8	0.39742	0.04968	10.54	0.0001
B*C	2	0.10322	0.05161	10.95	0.0001
A*C	4	0.03035	0.00759	1.61	0.1750
A*B*C	8	0.09138	0.01142	2.42	0.0185
RESIDUAL	117	0.55137	0.00471		

TABLA 10.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proteína ingerida/día por 100g de peso por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	0.9499	I
3	0.9419	I
5	0.9220	I
2	0.9127	I
4	0.8290	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$



TABLA 10.3.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proteína ingerida/día por 100g de peso por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	0.9514	I
2	0.9023	.. I
1	0.8796	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.4. Análisis de varianza de la ingesta/día (SS).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	19,4835	4,87088	1,74	0,1452
GRASA (B)	2	0,92316	0,46158	0,16	0,8469
SEXO (C)	1	33,3035	33,3035	11,87	0,0008
A*B	8	57,3727	7,17158	2,56	0,0133
B*C	2	64,2321	32,1161	11,45	0,0000
A*C	4	13,8538	3,46346	1,23	0,2995
A*B*C	8	19,9089	2,48862	0,89	0,5304
RESIDUAL	117	328,147	2,80467		

TABLA 10.4.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta/día (SS) por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	16,280	I
1	16,254	I
2	16,004	I
5	15,828	I
4	15,292	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.4.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta/día (SS) por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	16,007	I
2	15,964	I
1	15,823	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.5. Análisis de varianza de la ingesta día por 100 g de peso medio.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	13.2879	3.32198	7.53	0.0001
GRASA (B)	2	1.19745	0.59872	1.36	0.2604
SEXO (C)	1	6.77985	6.77985	15.37	0.0001
A*B	8	11.0650	1.38313	3.14	0.0031
B*C	2	8.86283	4.43141	10.05	0.0001
A*C	4	2.33725	0.58431	1.32	0.2640
A*B*C	8	7.70562	0.96320	2.18	0.0333
RESIDUAL	117	51.5969	0.44100		

TABLA 10.5.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria por 100 g de peso medio por azucar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	9.1491	I
1	8.9069	I
5	8.8434	I
2	8.8107	I
4	8.2450	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.5.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria por 100 g de peso medio por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	8.8927	I
1	8.8051	I
2	8.6752	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.6. Análisis de varianza de la ingesta diaria ingesta calórica por 100 g de peso medio.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	182.876	45.7190	7.36	0.0001
GRASA (B)	2	20.9176	10.4588	1.68	0.1880
SEXO (C)	1	95.3088	95.3088	15.35	0.0002
A*B	8	178.913	22.3641	3.60	0.0009
B*C	2	123.777	61.8883	9.97	0.0001
A*C	4	32.2604	8.06510	1.30	0.2739
A*B*C	8	107.410	13.4262	2.16	0.0352
RESIDUAL	117	726.507	6.20946		

TABLA 10.6.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria calórica por 100 g de peso medio por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	34.266	I
1	33.385	I
5	33.343	I
2	32.844	I
4	30.947	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.6.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria calórica por 100 g de peso medio por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	33.244	I
3	33.197	I
2	32.430	I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental II

TABLA 10.7. Análisis de varianza de Δ Peso/día.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	10,174	1,2718	3,39	0,0025
SEXO (B)	1	74,181	74,181	197,59	0,0001
A*B	8	3,4045	4,2556E-01	1,13	0,3520
RESIDUAL	70	26,280	3,7543E-01		

TABLA 10.7.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
52	3,567	I
15	3,474	I I
14	3,113	I I I
53	2,962	I I I
51	2,840	I I I
16	2,803	I I I
42	2,700	I I I
43	2,672	.. I I
41	2,546 I

Nivel de significación $p < 0,05$



TABLA 10.8. Análisis de varianza de la proteína ingerida/día.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	0.81545	0.10193	3.32	0.0029
SEXO (B)	1	0.48539	0.48539	15.79	0.0002
A*B	8	0.19919	0.02490	0.81	0.5974
RESIDUAL	70	2.15237	0.03075		

TABLA 10.8.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proteína ingerida/día por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
52	1.6755	I
51	1.6729	I
42	1.6266	I I
53	1.6023	I I
15	1.5688	I I
43	1.5556	I I
14	1.5472	I I
41	1.4307	I I
16	1.3802	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.9. Análisis de varianza de la proteína diaria ingerida por 100g de peso medio.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	0.29558	0.03695	6.15	0.0001
SEXO (B)	1	0.00770	0.00770	1.28	0.2611
A*B	8	0.04714	0.00589	0.98	0.4583
RESIDUAL	70	0.42020	0.00600		

TABLA 10.9.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proteína diaria ingerida por 100 g de peso medio por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
51	0.9572	I
52	0.9292	I I
53	0.8796	I I I
43	0.8731	I I I
14	0.8330	.. I I
15	0.8188	.. I I
42	0.8157 I
41	0.7984 I
16	0.7767 I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.10. Análisis de varianza de la ingesta/día (SS).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	52,2219	6,52773	2,21	0,0365
SEXO (B)	1	45,9941	45,9941	15,58	0,0002
A*B	8	18,1958	2,27448	0,77	0,6311
RESIDUAL	70	206,671	2,95244		

TABLA 10.10.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta/día SS por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
42	16,162	I
51	16,131	I
52	15,711	I I
53	15,641	I I
15	15,113	I I
43	15,109	I I
14	15,108	I I
41	14,606	I I
16	13,584	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.11. Análisis de varianza de la ingesta diaria por 100 g de peso medio.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	18.3300	2.29125	4.00	0.0006
SEXO (B)	1	0.73073	0.73073	1.28	0.2625
A*B	8	4.50189	0.56274	0.98	0.4574
RESIDUAL	70	40.0844	0.57263		

TABLA 10.11.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria por 100 g de peso medio por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
51	9.2300	I
52	8.7134	I I
53	8.5869	I I
43	8.4801	I I
41	8.1503	I I
14	8.1339	.. I
42	8.1046	.. I
15	7.8877	.. I
16	7.6441	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.12. Análisis de varianza de la ingesta calórica diaria por 100 g de peso medio.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	211.178	26.3972	3.09	0.0049
SEXO (B)	1	10.9159	10.9159	1.28	0.2624
A*B	8	72.9048	9.11310	1.07	0.3972
RESIDUAL	70	598.620	8.55171		

TABLA 10.12.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta calórica diaria por 100 g de peso medio por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
51	35.172	I
14	34.408	I I
15	33.291	I I I
52	32.972	I I I
16	32.064	I I I
43	31.975	I I I
53	31.886	I I I
41	30.663	.. I I
42	30.204 I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 10.13. Análisis de varianza de Δ Peso/día.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	4,0441	8,0883E-01	1,66	0,1631
SEXO (B)	1	31,971	31,971	65,52	0,0000
A*B	5	4,1680	8,3360E-01	1,71	0,1508
RESIDUAL	48	23,423	4,8797E-01		

TABLA 10.13.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	3,474	I
3	3,236	I
1	3,128	I
4	3,113	I
6	2,803	I
2	2,700	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.14. Análisis de varianza de la proteína ingerida/día

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	2.09394	0.41879	14.53	0.0000
SEXO (B)	1	0.05613	0.05613	1.95	0.1693
A*B	5	0.33855	0.06771	2.35	0.0550
RESIDUAL	48	1.38368	0.02883		

TABLA 10.14.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proteína ingerida/día por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	1.9973	I
1	1.6232	.. I
2	1.5787	.. I I
5	1.5688	.. I I
4	1.5472	.. I I
6	1.3802 I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.15. Análisis de varianza de la proteína ingerida diaria por 100 g de peso medio.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	0.63214	0.12643	34.43	0.0000
SEXO (B)	1	0.03316	0.03316	9.03	0.0042
A*B	5	0.10146	0.02029	5.53	0.0004
RESIDUAL	48	0.17626	0.00367		

TABLA 10.15.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proteína ingerida diaria por 100 g de peso medio por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	1.0957	I
1	0.8807	.. I
2	0.8733	.. I
4	0.8330	.. I I
5	0.8188	.. I I
6	0.7767 I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.16. Análisis de varianza de la ingesta diaria (SS).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	74,2593	14,8519	5,89	0,0003
SEXO (B)	1	6,30326	6,30326	2,50	0,1206
A*B	5	27,9465	5,58929	2,21	0,0680
RESIDUAL	48	121,136	2,52367		

TABLA 10.16.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria (ss) por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	17,098	I
1	16,426	I
2	15,237	I I
5	15,113	I I
4	15,108	I I
6	13,584	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.17. Análisis de varianza de la ingesta diaria por 100 g de peso medio.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	21.2856	4.25712	12.58	0.0000
SEXO (B)	1	2.60423	2.60423	7.69	0.0079
A*B	5	7.91097	1.58219	4.67	0.0015
RESIDUAL	48	16.2478	0.33850		

TABLA 10.17.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria por 100 g de peso medio por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	9.3802	I
1	8.9122	I I
2	8.4281	.. I I
4	8.1339 I I
5	7.8877 I I
6	7.6441 I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 10.18. Análisis de varianza de la ingesta diaria calórica por 100 g de peso medio.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	89.2489	17.8498	3.29	0.0124
SEXO (B)	1	37.1997	37.1997	6.85	0.0118
A*B	5	118.703	23.7407	4.37	0.0023
RESIDUAL	48	260.590	5.42895		

TABLA 10.18.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria calórica por 100 g de peso medio por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	34.909	I
4	34.408	I I
1	33.776	I I
5	33.291	I I
6	32.064	I I
2	31.468	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 11. Evolución de la ingesta a lo largo de los experimentos. Los valores se expresan como la media aritmética \pm EEM

Ingesta/día (g SF/día)	SEMANA 1		SEMANA 2		SEMANA 3	
S10 O4	20,61 \pm 0,70	14,00 \pm 0,64	20,73 \pm 0,73	16,45 \pm 0,54	20,60 \pm 0,52	15,17 \pm 0,42
S10 M4	19,88 \pm 0,66	16,42 \pm 0,59	19,05 \pm 1,23	13,53 \pm 0,72	18,49 \pm 0,99	14,26 \pm 0,77
S10 P4	17,21 \pm 1,49	19,03 \pm 1,64	20,34 \pm 2,07	18,74 \pm 0,79	20,82 \pm 0,78	16,89 \pm 0,46
F10 O4	21,21 \pm 0,99	16,35 \pm 0,78	21,76 \pm 1,19	18,91 \pm 0,96	17,88 \pm 0,71	10,63 \pm 0,40
F10 M4	20,31 \pm 0,76	16,68 \pm 0,64	19,84 \pm 1,04	13,81 \pm 0,90	18,80 \pm 1,01	14,71 \pm 0,71
F10 P4	17,88 \pm 1,05	17,32 \pm 0,74	20,37 \pm 1,40	18,48 \pm 0,82	20,87 \pm 0,83	16,64 \pm 0,57
G10 O4	19,22 \pm 0,52	14,81 \pm 0,60	19,93 \pm 0,56	22,78 \pm 1,10	13,85 \pm 1,40	14,07 \pm 0,45
G10 M4	18,23 \pm 0,94	18,23 \pm 0,94	23,13 \pm 1,21	16,17 \pm 1,08	24,53 \pm 0,96	16,02 \pm 0,77
G10 P4	18,82 \pm 0,55	16,45 \pm 0,40	17,79 \pm 0,84	17,43 \pm 0,60	17,36 \pm 0,50	14,18 \pm 0,86
S30 O4	18,04 \pm 0,64	11,34 \pm 0,96	16,68 \pm 1,34	12,57 \pm 0,82	20,33 \pm 0,88	13,41 \pm 0,33
S30 M4	14,86 \pm 0,95	14,86 \pm 0,95	20,67 \pm 1,04	16,54 \pm 1,54	22,62 \pm 1,24	16,22 \pm 0,78
S30 P4	18,93 \pm 1,01	15,54 \pm 0,70	17,69 \pm 0,85	16,41 \pm 0,60	16,50 \pm 0,56	11,43 \pm 0,74
GF30 O4	20,07 \pm 0,97	14,86 \pm 0,95	20,04 \pm 0,75	16,71 \pm 0,76	21,69 \pm 2,01	15,31 \pm 0,80
GF30 M4	19,40 \pm 1,33	15,20 \pm 0,60	21,62 \pm 0,85	17,14 \pm 0,64	21,42 \pm 0,97	16,08 \pm 0,99
GF30 P4	15,97 \pm 1,28	17,72 \pm 1,18	16,88 \pm 1,33	18,06 \pm 0,78	18,70 \pm 0,64	13,62 \pm 1,40
S10 O13	18,83 \pm 1,42	14,70 \pm 0,70	17,78 \pm 0,90	15,19 \pm 0,60	19,64 \pm 1,71	13,74 \pm 0,43
S10 M13	19,13 \pm 1,43	13,79 \pm 0,89	20,18 \pm 1,69	15,19 \pm 1,09	21,39 \pm 2,53	14,04 \pm 0,73
S10 P13	14,85 \pm 1,12	15,39 \pm 1,72	14,51 \pm 1,47	15,61 \pm 0,64	14,56 \pm 0,76	12,13 \pm 1,12



TABLA 12. Evolución semanal de la ingesta diaria (g/día SF) a lo largo de los experimentos. Los valores se expresan como la media aritmética \pm EEM.

DIETA	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	TOTAL
S10 O4	17,30 \pm 0,62	18,59 \pm 0,55	17,89 \pm 0,40	17,81 \pm 0,04
S10 M4	18,15 \pm 0,44	16,29 \pm 0,96	16,38 \pm 0,75	16,86 \pm 0,62
S10 P4	18,12 \pm 0,75	19,54 \pm 1,31	18,85 \pm 0,61	18,66 \pm 0,80
F10 O4	18,78 \pm 0,86	20,34 \pm 0,72	14,25 \pm 0,53	18,04 \pm 0,59
F10 M4	18,50 \pm 0,66	16,83 \pm 0,96	16,76 \pm 0,84	17,15 \pm 0,75
F10 P4	17,60 \pm 0,87	19,42 \pm 1,05	18,76 \pm 0,65	18,28 \pm 0,65
G10 O4	17,02 \pm 0,53	21,35 \pm 0,71	13,96 \pm 0,86	17,23 \pm 0,41
G10 M4	18,23 \pm 0,94	19,65 \pm 1,13	20,27 \pm 0,84	19,01 \pm 0,81
G10 P4	17,63 \pm 0,45	17,61 \pm 0,62	15,77 \pm 0,61	16,88 \pm 0,45
S30 O4	14,69 \pm 0,70	14,63 \pm 1,05	16,87 \pm 0,55	15,39 \pm 0,67
S30 M4	14,86 \pm 0,95	18,60 \pm 1,24	19,42 \pm 0,88	17,27 \pm 0,68
S30 P4	17,24 \pm 0,83	17,05 \pm 0,64	13,96 \pm 0,52	15,83 \pm 0,56
GF30 O4	17,46 \pm 0,90	18,38 \pm 0,51	18,50 \pm 1,07	17,58 \pm 0,61
GF30 M4	17,30 \pm 0,90	19,38 \pm 0,69	18,75 \pm 0,96	18,14 \pm 0,73
GF30 P4	16,85 \pm 1,18	17,47 \pm 1,02	16,16 \pm 0,93	16,76 \pm 0,87
S10 O13	16,77 \pm 1,05	16,48 \pm 0,67	16,69 \pm 0,93	16,49 \pm 0,37
S10 M13	16,46 \pm 1,11	17,68 \pm 0,65	17,71 \pm 1,04	16,74 \pm 0,43
S10 P13	15,12 \pm 1,24	15,06 \pm 0,97	13,34 \pm 0,81	14,49 \pm 0,73

Bloque experimental I**TABLA 12.1.** Análisis de varianza de la ingesta diaria (SF).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	56.8688	14.2172	4.27	0.0030
GRASA (B)	2	8.68838	4.34419	1.31	0.2743
SEXO (C)	1	40.9199	40.9199	12.30	0.0006
A*B	8	77.6426	9.70532	2.92	0.0054
B*C	2	79.8982	39.9491	12.01	0.0000
A*C	4	16.9943	4.24858	1.28	0.2824
RESIDUAL	8	23.9478	2.99348	0.90	0.5202

TABLA 12.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria (SF) por azucar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	17.825	I
3	17.779	I
1	17.777	I
5	17.527	I
4	16.210	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$ **TABLA 12.1.2.** Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria (SF) por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	17.760	I
3	17.303	I
1	17.208	I

Nivel de significación $p < 0,05$ **TABLA 12.2.** Análisis de varianza de la ingesta diaria semanal (SF) durante la 3ª semana.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	43.1150	10.7787	2.17	0.0753
GRASA (B)	2	120.164	60.0820	12.11	0.0001
SEXO (C)	1	48.1776	48.1776	9.71	0.0023
A*B	8	426.446	53.3057	10.75	0.0000
B*C	2	57.2730	28.6365	5.77	0.0042
A*C	4	25.6888	6.42221	1.29	0.2754
A*B*C	8	24.8731	3.10914	0.63	0.7552
RESIDUAL	117	580.297	4.95980		

TABLA 12.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria semanal durante la 3ª semana por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	17.854	I
1	17.706	I
4	16.808	I
3	16.700	I
2	16.589	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 12.2.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria semanal durante la 3ª semana por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	18.372	I
3	16.730	.. I
1	16.292	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental II

TABLA 12.3. Análisis de varianza de la ingesta diaria (SF).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	106.015	13.2519	3.87	0.0008
SEXO (B)	1	55.1475	55.1475	16.09	0.0001
A*B	8	23.1397	2.89246	0.84	0.5686
RESIDUAL	70	239.921	3.42744		

TABLA 12.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria (SF) por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
52	18.144	I
51	17.578	I I
42	17.414	I I
53	16.858	I I I
15	16.738	I I I
14	16.486	I I I
43	15.832	I I I
41	15.385	.. I I
16	14.488 I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 12.4. Análisis de varianza de la ingesta diaria semanal durante la 3ª semana por experimento.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	355.582	44.4477	6.70	0.0001
SEXO (B)	1	12.2252	12.2252	1.84	0.1789
A*B	8	118.411	14.8013	2.23	0.0349
RESIDUAL	70	464.267	6.63239		

TABLA 12.4.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria semanal durante la 3ª semana por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
42	19.596	I
52	18.751	I
51	18.498	I
15	17.715	I
41	16.866	I I
14	16.691	I I
53	16.312	I I
43	13.963	.. I
16	13.344	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 12.5. Análisis de varianza de la ingesta diaria (SF).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	99.2933	19.8587	6.63	0.0001
SEXO (B)	1	7.42509	7.42509	2.48	0.1218
A*B	5	32.9918	6.59836	2.20	0.0691
RESIDUAL	48	143.665	2.99302		

TABLA 12.5.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria (SF) por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	18.664	I
1	17.806	I
2	16.861	I
5	16.738	I I
4	16.486	I I
6	14.488	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 12.6. Análisis de varianza de la ingesta diaria semanal durante la 3ª semana.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	183.631	36.7263	6.80	0.0001
SEXO (B)	1	7.45467	7.45467	1.38	0.2459
A*B	5	66.8853	13.3771	2.48	0.0449
RESIDUAL	48	259.330	5.40271		

TABLA 12.6.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria semanal durante la 3ª semana por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	18.853	I
1	17.887	I
5	17.715	I
4	16.691	I
2	16.379	I I
6	13.344	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 13. Evolución semanal de la ingesta diaria calculada por 100 g de peso medio (g/día SF) a lo largo de los experimentos. Los datos se expresan como la media \pm EEM.

DIETA	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	TOTAL
S10 O4	10,54 \pm 0,28	9,84 \pm 0,28	8,55 \pm 0,23	9,66 \pm 0,17
S10 M4	10,95 \pm 0,18	8,76 \pm 0,42	8,16 \pm 0,16	9,33 \pm 0,20
S10 P4	11,15 \pm 0,36	10,26 \pm 0,56	9,03 \pm 0,27	10,24 \pm 0,36
F10 O4	10,71 \pm 0,32	10,07 \pm 0,43	6,50 \pm 0,18	9,43 \pm 0,22
F10 M4	11,87 \pm 0,22	9,36 \pm 0,35	8,45 \pm 0,20	9,79 \pm 0,17
F10 P4	11,07 \pm 0,52	10,41 \pm 0,52	9,07 \pm 0,26	10,22 \pm 0,37
G10 O4	11,10 \pm 0,27	11,89 \pm 0,29	7,18 \pm 0,54	10,14 \pm 0,20
G10 M4	11,26 \pm 0,54	10,38 \pm 0,43	9,66 \pm 0,38	10,31 \pm 0,26
G10 P4	10,47 \pm 0,21	8,98 \pm 0,34	7,63 \pm 0,26	9,46 \pm 0,26
S30 O4	8,98 \pm 0,37	7,96 \pm 0,43	8,58 \pm 0,20	8,59 \pm 0,26
S30 M4	8,32 \pm 0,44	9,38 \pm 0,36	9,02 \pm 0,38	8,72 \pm 0,14
S30 P4	10,19 \pm 0,39	8,70 \pm 0,33	6,80 \pm 0,24	8,89 \pm 0,25
GF30 O4	11,13 \pm 0,44	10,25 \pm 0,24	9,35 \pm 0,56	10,06 \pm 0,34
GF30 M4	10,91 \pm 0,32	10,35 \pm 0,25	8,96 \pm 0,38	10,06 \pm 0,21
GF30 P4	9,92 \pm 0,58	8,82 \pm 0,41	7,73 \pm 0,40	9,24 \pm 0,40
S10 O13	9,88 \pm 0,54	8,42 \pm 0,25	7,99 \pm 0,60	8,88 \pm 0,14
S10 M13	9,62 \pm 0,44	8,87 \pm 0,17	8,16 \pm 0,70	8,74 \pm 0,20
S10 P13	9,14 \pm 0,72	7,69 \pm 0,39	6,48 \pm 0,38	8,15 \pm 0,30

Bloque experimental I**TABLA 13.1.** Análisis de varianza de la ingesta diaria semanal por 100 g de peso medio durante la 3ª semana.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	10.9046	2.72616	2.85	0.0267
GRASA (B)	2	21.2103	10.6052	11.09	0.0001
SEXO (C)	1	16.5068	16.5068	17.26	0.0001
A*B	8	93.9209	11.7401	12.28	0.0000
B*C	2	3.89750	1.94875	2.04	0.1326
A*C	4	2.83889	0.70972	0.74	0.5678
A*B*C	8	6.08571	0.76071	0.80	0.6089
RESIDUAL	117	111.887	0.95630		

TABLA 13.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria semanal por 100 g de peso medio durante la 3ª semana por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	8.6840	I
1	8.5796	I
3	8.1432	I
4	8.1314	I
2	8.0081	I

Nivel de significación $p < 0,05$ **TABLA 13.1.2.** Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria semanal por 100 g de peso medio durante la 3ª semana por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	8.8409	I
3	8.0552	.. I
1	8.0317	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$ **Bloque experimental II****TABLA 13.2.** Análisis de varianza de la ingesta diaria semanal por 100 g de peso medio durante la 3ª semana.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	78.3044	9.78805	5.83	0.0001
SEXO (B)	1	21.4252	21.4252	12.75	0.0006
A*B	8	22.9761	2.87201	1.71	0.1109
RESIDUAL	70	117.612	1.68018		



TABLA 13.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria semanal por 100 g de peso medio durante la 3ª semana por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
51	9.3535	I
42	9.0149	I
52	8.9591	I
41	8.5753	I I
15	8.1573	I I I
14	7.9912	I I I
53	7.7395	I I I
43	6.8040	.. I I
16	6.4762 I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 13.3. Análisis de varianza de la ingesta diaria semanal por 100 g de peso durante la 3ª semana.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	37.0974	7.41948	6.15	0.0002
SEXO (B)	1	27.7258	27.7258	22.98	0.0001
A*B	5	17.9643	3.59285	2.98	0.0202
RESIDUAL	48	57.9032	1.20632		

TABLA 13.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la ingesta diaria semanal por 100 g de peso medio durante la 3ª semana por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	9.0258	I
1	8.5546	I
2	8.1585	I
5	8.1573	I
4	7.9912	I
6	6.4762	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 14. Evolución del peso a lo largo de los experimentos. Los valores son expresados como la media aritmética \pm EEM.

Δ Peso/día (g/día)	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3
S10 O4	3,90 \pm 0,36	2,99 \pm 0,24	2,49 \pm 0,19
S10 M4	3,83 \pm 0,37	2,08 \pm 0,55	2,16 \pm 0,33
S10 P4	4,45 \pm 0,46	3,38 \pm 0,28	2,04 \pm 0,20
F10 O4	4,29 \pm 0,51	3,31 \pm 0,36	1,51 \pm 0,18
F10 M4	4,29 \pm 0,43	2,80 \pm 0,59	2,44 \pm 0,40
F10 P4	4,10 \pm 0,34	3,79 \pm 0,21	1,58 \pm 0,39
G10 O4	4,23 \pm 0,40	3,28 \pm 0,32	1,58 \pm 0,23
G10 M4	3,71 \pm 0,45	3,94 \pm 0,56	2,37 \pm 0,43
G10 P4	5,08 \pm 0,43	2,93 \pm 0,41	0,05 \pm 0,42
S30 O4	3,55 \pm 0,55	1,76 \pm 0,58	2,34 \pm 0,26
S30 M4	2,48 \pm 0,37	2,95 \pm 0,56	2,36 \pm 0,42
S30 P4	5,30 \pm 0,49	2,59 \pm 0,27	0,12 \pm 0,25
GF30 O4	3,48 \pm 0,40	2,90 \pm 0,45	2,13 \pm 0,36
GF30 M4	4,23 \pm 0,49	4,37 \pm 0,47	2,09 \pm 0,47
GF30 P4	5,10 \pm 0,72	3,10 \pm 0,48	0,34 \pm 0,32
S10 O13	4,61 \pm 0,61	2,95 \pm 0,46	1,78 \pm 0,27
S10 M13	4,41 \pm 0,69	4,23 \pm 0,48	1,99 \pm 0,44
S10 P13	4,98 \pm 0,62	3,59 \pm 0,68	-0,17 \pm 0,45

Bloque experimental I**TABLA 14.1.** Análisis de varianza de Δ Peso semanal durante la 3ª semana.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	13,256	3,3140	6,09	0,0002
GRASA (B)	2	61,137	30,568	56,17	0,0001
SEXO (C)	1	77,523	77,523	142,46	0,0000
B*C	2	4,7577	2,3789	4,37	0,0146
A*B	8	29,203	3,6503	6,71	0,0000
A*C	4	1,9080	4,7699E-01	0,88	0,4821
A*B*C	8	3,1208	3,9010E-01	0,72	0,6777
RESIDUAL	117	63,667	5,4417E-01		

TABLA 14.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día semanal durante la 3ª semana por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	2,237	I
2	1,848	I I
4	1,648	.. I
5	1,551	.. I
3	1,367	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$ **TABLA 14.1.2.** Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día semanal durante la 3ª semana por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	2,328	I
1	2,017	I
3	0,845	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$ **Bloque experimental II****TABLA 14.2.** Análisis de varianza de Δ Peso/día semanal durante la 3ª semana.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	85,759	10,720	13,97	0,0001
SEXO (B)	1	43,857	43,857	57,15	0,0000
A*B	8	11,759	1,4699	1,92	0,0707
RESIDUAL	70	53,714	7,6734E-01		

TABLA 14.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día semanal durante la 3ª semana por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
42	2,479	I
41	2,346	I
51	2,137	I
52	2,091	I
15	1,991	I
14	1,780	I
53	0,426	.. I
43	0,119	.. I
16	-0,167	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 14.3. Análisis de varianza de Δ Peso/día semanal durante la 3ª semana.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	45,521	9,1042	12,57	0,0000
SEXO (B)	1	17,243	17,243	23,81	0,0000
A*B	5	7,9348	1,5870	2,19	0,0706
RESIDUAL	48	34,767	7,2430E-01		

TABLA 14.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día semanal durante la 3ª semana por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	2,499	I
2	2,169	I
3	2,043	I
5	1,991	I
4	1,780	I
6	-0,167	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 15. Crecimiento (g/día) de los distintos experimentos expresado por 100 g de peso medio y por 100 g de peso inicial.

DIETA	Δ Peso/día (por 100 g de peso medio)	Δ Peso/día (por 100 g de peso inicial)
S10 O4	1,69±0,09	2,09±0,14
S10 M4	1,46±0,16	1,77±0,24
S10 P4	1,76±0,09	2,19±0,13
F10 O4	1,58±0,13	1,94±0,18
F10 M4	1,74±0,20	2,23±0,32
F10 P4	1,68±0,08	2,09±0,12
G10 O4	1,76±0,14	2,19±0,20
G10 M4	1,79±0,19	2,27±0,30
G10 P4	1,48±0,15	1,79±0,22
S30 O4	1,39±0,12	1,67±0,18
S30 M4	1,28±0,15	1,52±0,21
S30 P4	1,48±0,15	1,79±0,21
GF30 O4	1,61±0,13	1,98±0,18
GF30 M4	1,93±0,18	2,48±0,29
GF30 P4	1,55±0,19	1,90±0,29
S10 O13	1,66±0,15	2,05±0,22
S10 M13	1,77±0,15	2,24±0,24
S10 P13	1,55±0,20	1,92±0,30

Bloque experimental I**TABLA 15.1.** Análisis de varianza de Δ Peso/día por 100 g de peso medio.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	1.95671	0.48918	5.98	0.0002
GRASA (B)	2	0.10821	0.05410	0.66	0.5230
SEXO (C)	1	17.1130	17.1130	209.17	0.0000
A*B	8	2.02902	0.25363	3.10	0.0034
B*C	2	0.78966	0.39483	4.83	0.0097
A*C	4	0.87735	0.21934	2.68	0.0346
A*B*C	8	0.61103	0.07638	0.93	0.4924
RESIDUAL	117	9.57229	0.08181		

TABLA 15.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso medio por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	1.7119	I
3	1.6974	I
2	1.6648	I
1	1.6362	I
4	1.3997	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$ **TABLA 15.1.2.** Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso medio por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	1.6598	I
1	1.6060	I
3	1.6001	I

Nivel de significación $p < 0,05$ **TABLA 15.2.** Análisis de varianza de Δ Peso/día por 100 g de peso inicial.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	4.28377	1.07094	5.89	0.0003
GRASA (B)	2	0.41316	0.20658	1.14	0.3251
SEXO (C)	1	38.0454	38.0454	209.23	0.0000
A*B	8	4.46287	0.55786	3.07	0.0037
B*C	2	2.08558	1.04279	5.73	0.0044
A*C	4	2.06008	0.51502	2.83	0.0274
A*B*C	8	1.33656	0.16707	0.92	0.5044
RESIDUAL	117	21.2743	0.18183		

TABLA 15.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso inicial por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	2.1457	I
3	2.1135	I
2	2.0855	I
1	2.0168	I
4	1.6815	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 15.2.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso inicial por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	2.0828	I
1	1.9731	I
3	1.9699	I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental II

TABLA 15.3. Análisis de varianza de Δ Peso/día por 100 g de peso medio.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	2.71264	0.33908	4.43	0.0002
SEXO (B)	1	14.2984	14.2984	186.76	0.0000
A*B	8	0.55829	0.06979	0.91	0.5130
RESIDUAL	70	5.35936	0.07656		

TABLA 15.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso medio por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
52	1.9254	I
15	1.7652	I I
14	1.6620	I I I
51	1.6095	I I I
53	1.6009	I I I
16	1.5540	I I I
43	1.4824	.. I I
41	1.3915	.. I I
42	1.3251 I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 15.4. Análisis de varianza de Δ Peso/día por 100 g de peso inicial.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	6.06380	0.75798	4.27	0.0003
SEXO (B)	1	31.5890	31.5890	178.06	0.0000
A*B	8	1.56682	0.19585	1.10	0.3712
RESIDUAL	70	12.4183	0.17740		

TABLA 15.4.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso inicial por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
52	2.4760	I
15	2.2357	I I
14	2.0509	I I I
53	1.9824	I I I
51	1.9786	I I I
16	1.9249	I I I
43	1.7905	.. I I
41	1.6685	.. I I
42	1.5854 I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 15.5. Análisis de varianza de Δ Peso/día por 100 g de peso medio.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	0.70813	0.14163	1.44	0.2271
SEXO (B)	1	6.03168	6.03168	61.34	0.0000
A*B	5	0.80547	0.16109	1.64	0.1680
RESIDUAL	48	4.72017	0.09834		

TABLA 15.5.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso medio por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	1.7652	I
3	1.7577	I
1	1.6884	I
4	1.6620	I
6	1.5540	I
2	1.4625	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 15.6. Análisis de varianza de Δ Peso/día por 100 g de peso inicial.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	1.49105	0.29821	1.31	0.2752
SEXO (B)	1	13.7253	13.7253	60.34	0.0000
A*B	5	1.85433	0.37087	1.63	0.1700
RESIDUAL	48	10.9182	0.22746		

TABLA 15.6.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso inicial por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	2.2357	I
3	2.1932	I
1	2.0854	I
4	2.0509	I
6	1.9249	I
2	1.7717	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 16. Evolución semanal del peso calculado por 100 g de peso medio a lo largo de los experimentos. Los datos se expresan como la media \pm EEM.

DIETA	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3
S10 O4	2,36 \pm 0,21	1,57 \pm 0,12	1,19 \pm 0,09
S10 M4	2,30 \pm 0,21	1,08 \pm 0,28	1,05 \pm 0,13
S10 P4	2,71 \pm 0,24	1,77 \pm 0,13	0,97 \pm 0,08
F10 O4	2,41 \pm 0,25	1,59 \pm 0,13	0,67 \pm 0,06
F10 M4	2,73 \pm 0,23	1,51 \pm 0,31	1,18 \pm 0,16
F10 P4	2,57 \pm 0,19	2,03 \pm 0,10	0,75 \pm 0,19
G10 O4	2,74 \pm 0,23	1,81 \pm 0,16	0,79 \pm 0,10
G10 M4	2,29 \pm 0,28	2,06 \pm 0,25	1,10 \pm 0,17
G10 P4	3,01 \pm 0,25	1,48 \pm 0,20	-0,01 \pm 0,19
S30 O4	2,13 \pm 0,30	0,92 \pm 0,30	1,19 \pm 0,14
S30 M4	1,38 \pm 0,17	1,46 \pm 0,24	1,07 \pm 0,17
S30 P4	3,13 \pm 0,28	1,31 \pm 0,12	0,04 \pm 0,12
GF30 O4	2,21 \pm 0,23	1,62 \pm 0,26	1,06 \pm 0,17
GF30 M4	2,64 \pm 0,25	2,28 \pm 0,18	0,94 \pm 0,19
GF30 P4	2,98 \pm 0,38	1,55 \pm 0,22	0,15 \pm 0,15
S10 O13	2,70 \pm 0,34	1,48 \pm 0,21	0,85 \pm 0,13
S10 M13	2,53 \pm 0,34	2,09 \pm 0,19	0,88 \pm 0,20
S10 P13	3,01 \pm 0,37	1,78 \pm 0,30	-0,09 \pm 0,21

Bloque experimental I

TABLA 16.1. Análisis de varianza de Δ Peso/día por 100 g de peso medio semanal durante la 3ª semana.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	3.24663	0.81166	6.79	0.0001
GRASA (B)	2	14.1163	7.05815	59.07	0.0001
SEXO (C)	1	12.3325	12.3325	103.22	0.0001
A*B	8	7.25614	0.90702	7.59	0.0001
B*C	2	0.70876	0.35438	2.97	0.0540
A*C	4	0.40898	0.10225	0.86	0.4947
A*B*C	8	0.86787	0.10848	0.91	0.5133
RESIDUAL	117	13.9791	0.11948		

TABLA 16.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso medio semanal durante la 3ª semana por azucar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	1.0693	I
2	0.8660	I I
4	0.7804	.. I
5	0.7306	.. I
3	0.6344	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 16.1.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso medio semanal durante la 3ª semana por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	1.0830	I
1	0.9790	I
3	0.3865	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental II

TABLA 16.2. Análisis de varianza de Δ Peso/día por 100 g de peso medio semanal durante la 3ª semana.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	19.7539	2.46924	13.14	0.0001
SEXO (B)	1	6.93643	6.93643	36.92	0.0001
A*B	8	2.19920	0.27490	1.46	0.1859
RESIDUAL	70	13.1529	0.18790		



TABLA 16.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso medio semanal durante la 3ª semana por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
41	1.1875	I
42	1.1140	I
51	1.0630	I
52	0.9438	I
15	0.8771	I
14	0.8487	I
53	0.1849	.. I
43	0.0396	.. I
16	-0.0887	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 16.3. Análisis de varianza de Δ Peso/día por 100 g de peso medio semanal durante la 3ª semana.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	10.4110	2.08219	12.70	0.0001
SEXO (B)	1	2.62597	2.62597	16.01	0.0002
A*B	5	1.68969	0.33794	2.06	0.0868
RESIDUAL	48	7.87150	0.16399		

TABLA 16.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias Δ Peso/día por 100 g de peso medio semanal durante la 3ª semana por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
1	1.1905	I
2	1.0516	I
3	0.9659	I
5	0.8771	I
4	0.8487	I
6	-0.0887	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 17. Comparación de la ingesta real de los ácidos grasos esenciales con la ingesta requerida calculada a partir de los requerimientos mínimos y máximos hallados en la bibliografía (LEAT, 1983; SANDERS, 1988; VERGROESEN, 1989; BOURRE *et al.*, 1990, 1993; SARDESAI, 1992). Los datos se expresan como la media \pm EEM.

DIETA	linoleico		α -linolénico	
	REQUERIMIENTOS (mg/día)	INGESTA REAL (mg/día)	REQUERIMIENTO S (mg/día)	INGESTA REAL (mg/día)
S10 O4	89,03-445,16	45,01 \pm 1,01	17,81-44,52	18,85 \pm 0,42
S10 M4	84,30-421,51	162,21 \pm 5,98	16,86-42,15	14,98 \pm 0,55
S10 P4	93,32-466,61	2,18 \pm 0,09	18,66-46,66	2,47 \pm 0,11
F10 O4	90,20-451,02	43,61 \pm 1,42	18,04-45,10	18,26 \pm 0,59
F10 M4	85,77-428,86	171,87 \pm 7,47	17,15-42,89	15,88 \pm 0,69
F10 P4	91,40-457,01	2,21 \pm 0,08	18,28-45,70	2,50 \pm 0,09
G10 O4	86,16-430,81	47,50 \pm 1,12	17,23-43,08	19,89 \pm 0,47
G10 M4	95,03-475,15	189,17 \pm 8,01	19,01-47,52	17,48 \pm 0,74
G10 P4	84,40-422,01	2,09 \pm 0,06	16,88-42,20	2,37 \pm 0,06
S30 O4	76,93-384,63	41,42 \pm 1,80	15,39-38,46	17,35 \pm 0,76
S30 M4	86,35-431,76	174,75 \pm 6,92	17,27-43,18	16,14 \pm 0,64
S30 P4	79,16-395,79	1,98 \pm 0,07	15,83-39,58	2,24 \pm 0,08
GF30 O4	87,89-439,44	47,59 \pm 1,65	17,58-43,94	19,93 \pm 0,69
GF30 M4	90,72-453,60	208,61 \pm 8,41	18,14-45,36	19,27 \pm 0,78
GF30 P4	83,80-418,98	1,84 \pm 0,10	16,76-41,90	2,09 \pm 0,11
S10 O13	82,43-412,16	123,56 \pm 2,77	16,49-41,22	51,74 \pm 1,16
S10 M13	83,69-418,44	507,65 \pm 13,12	16,74-41,84	46,90 \pm 1,21
S10 P13	72,44-362,20	4,85 \pm 0,24	14,49-36,22	5,50 \pm 0,28

Para el cálculo de la ingesta requerida se han aplicado los valores de requerimientos mínimos y máximos (500-2.500 mg/100 g de alimento ingerido para el linoleico; 100-250 mg/100g de alimento ingerido para el α -linolénico) a la ingesta de las dietas experimentales.

TABLA 18. Coeficiente de eficacia en crecimiento (CEC) y evolución semanal del mismo de los distintos experimentos. Los datos se expresan como la media \pm EEM.

DIETA	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	GLOBAL
S10 O4	2,43 \pm 0,17	1,77 \pm 0,14	1,53 \pm 0,12	1,92 \pm 0,11
S10 M4	2,24 \pm 0,19	1,20 \pm 0,36	1,37 \pm 0,16	1,66 \pm 0,17
S10 P4	2,27 \pm 0,20	1,68 \pm 0,19	1,02 \pm 0,10	1,60 \pm 0,11
F10 O4	2,50 \pm 0,23	1,83 \pm 0,19	1,17 \pm 0,12	1,90 \pm 0,17
F10 M4	2,47 \pm 0,18	1,64 \pm 0,34	1,50 \pm 0,20	1,90 \pm 0,21
F10 P4	2,38 \pm 0,14	2,04 \pm 0,10	0,85 \pm 0,21	1,71 \pm 0,11
G10 O4	2,69 \pm 0,19	1,67 \pm 0,13	1,26 \pm 0,19	1,92 \pm 0,16
G10 M4	2,08 \pm 0,17	2,04 \pm 0,19	1,19 \pm 0,18	1,80 \pm 0,15
G10 P4	2,97 \pm 0,23	1,69 \pm 0,21	-0,01 \pm 0,25	1,64 \pm 0,18
S30 O4	2,50 \pm 0,36	1,11 \pm 0,42	1,49 \pm 0,17	1,74 \pm 0,15
S30 M4	1,76 \pm 0,16	1,60 \pm 0,21	1,26 \pm 0,18	1,56 \pm 0,17
S30 P4	3,11 \pm 0,24	1,56 \pm 0,17	0,06 \pm 0,18	1,71 \pm 0,18
GF30 O4	2,06 \pm 0,20	1,66 \pm 0,26	1,22 \pm 0,21	1,70 \pm 0,15
GF30 M4	2,58 \pm 0,18	2,39 \pm 0,18	1,13 \pm 0,21	2,07 \pm 0,19
GF30 P4	3,08 \pm 0,26	1,88 \pm 0,28	0,14 \pm 0,21	1,75 \pm 0,20
S10 O13	2,80 \pm 0,25	1,84 \pm 0,23	1,16 \pm 0,20	1,96 \pm 0,18
S10 M13	2,70 \pm 0,27	2,51 \pm 0,22	1,24 \pm 0,27	2,19 \pm 0,22
S10 P13	3,35 \pm 0,23	2,39 \pm 0,35	-0,31 \pm 0,44	1,96 \pm 0,19

TABLA 19. Índice de eficacia alimentaria (IEA) y evolución semanal del mismo de los distintos experimentos. Los datos se expresan como la media \pm EEM.

DIETA	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	GLOBAL
S10 O4	0,24 \pm 0,02	0,17 \pm 0,01	0,15 \pm 0,01	0,19 \pm 0,01
S10 M4	0,23 \pm 0,02	0,12 \pm 0,04	0,14 \pm 0,02	0,17 \pm 0,02
S10 P4	0,27 \pm 0,02	0,20 \pm 0,02	0,12 \pm 0,01	0,19 \pm 0,01
F10 O4	0,25 \pm 0,02	0,18 \pm 0,02	0,12 \pm 0,01	0,19 \pm 0,02
F10 M4	0,26 \pm 0,02	0,17 \pm 0,04	0,16 \pm 0,02	0,20 \pm 0,02
F10 P4	0,26 \pm 0,02	0,22 \pm 0,01	0,09 \pm 0,02	0,18 \pm 0,01
G10 O4	0,27 \pm 0,02	0,17 \pm 0,01	0,13 \pm 0,02	0,19 \pm 0,02
G10 M4	0,22 \pm 0,02	0,21 \pm 0,02	0,12 \pm 0,02	0,19 \pm 0,02
G10 P4	0,31 \pm 0,02	0,18 \pm 0,02	-0,01 \pm 0,02	0,17 \pm 0,02
S30 O4	0,25 \pm 0,03	0,11 \pm 0,04	0,15 \pm 0,02	0,17 \pm 0,01
S30 M4	0,18 \pm 0,02	0,16 \pm 0,02	0,13 \pm 0,02	0,16 \pm 0,02
S30 P4	0,32 \pm 0,02	0,16 \pm 0,02	0,01 \pm 0,02	0,18 \pm 0,02
GF30 O4	0,21 \pm 0,02	0,17 \pm 0,03	0,13 \pm 0,02	0,18 \pm 0,02
GF30 M4	0,28 \pm 0,02	0,26 \pm 0,02	0,12 \pm 0,02	0,22 \pm 0,02
GF30 P4	0,32 \pm 0,03	0,19 \pm 0,03	0,01 \pm 0,02	0,18 \pm 0,02
S10 O13	0,29 \pm 0,03	0,19 \pm 0,02	0,12 \pm 0,02	0,20 \pm 0,02
S10 M13	0,28 \pm 0,03	0,26 \pm 0,02	0,13 \pm 0,03	0,23 \pm 0,02
S10 P13	0,34 \pm 0,02	0,24 \pm 0,04	-0,03 \pm 0,04	0,20 \pm 0,02

TABLA 20. Influencia de las diferentes dietas sobre el peso del hígado y la relación hepatosomática. Los resultados se expresan como la media aritmética \pm EEM

DIETA	Peso hígado (g)	Relación hepatosomática (RHS)
S10 O4	6,943 \pm 0,221	3,183 \pm 0,095
S10 M4	6,314 \pm 0,238	3,026 \pm 0,042
S10 P4	7,455 \pm 0,434	3,404 \pm 0,113
F10 O4	7,317 \pm 0,405	3,225 \pm 0,059
F10 M4	6,605 \pm 0,469	3,142 \pm 0,117
F10 P4	7,001 \pm 0,348	3,267 \pm 0,118
G10 O4	6,201 \pm 0,283	3,065 \pm 0,091
G10 M4	6,886 \pm 0,391	3,131 \pm 0,070
G10 P4	6,067 \pm 0,195	2,932 \pm 0,039
S30 O4	6,219 \pm 0,221	3,018 \pm 0,085
S30 M4	6,891 \pm 0,352	3,050 \pm 0,106
S30 P4	6,327 \pm 0,275	3,063 \pm 0,077
GF30 O4	6,407 \pm 0,244	3,114 \pm 0,089
GF30 M4	7,122 \pm 0,457	3,255 \pm 0,073
GF30 P4	7,120 \pm 0,362	3,368 \pm 0,065
S10 O13	6,957 \pm 0,258	3,185 \pm 0,084
S10 M13	7,081 \pm 0,219	3,098 \pm 0,088
S10 P13	6,313 \pm 0,246	3,060 \pm 0,063

Bloque experimental I

TABLA 20.1. Análisis de varianza de la relación hepatosomática.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	1,1598	2,8996E-01	3,80	0,0062
GRASA (B)	2	2,5060E-01	1,2530E-01	1,64	0,1960
SEXO (C)	1	2,4609E-03	2,4609E-03	0,03	0,8578
A*B	8	1,1193	1,3991E-01	1,83	0,0770
B*C	2	1,2966E-01	6,4830E-02	0,85	0,4333
A*C	4	1,8597E-01	4,6492E-02	0,61	0,6598
A*B*C	8	4,1075E-01	5,1344E-02	0,67	0,7159
RESIDUAL	117	8,9276	7,6304E-02		

TABLA 20.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la relación hepatosomática por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	3,247	I
2	3,211	I I
1	3,205	I I
3	3,045	.. I
4	3,043	.. I

Nivel de significación p<0,05

TABLA 20.1.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la relación hepatosomática por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	3,208	I
2	3,122	I
1	3,121	I

Nivel de significación p<0,05

Bloque experimental II

TABLA 20.2. Análisis de varianza de la relación hepatosomática.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	1,0783	1,3478E-01	2,07	0,0501
SEXO (B)	1	6,0210E-03	6,0210E-03	0,09	0,7619
A*B	8	5,9855E-01	7,4819E-02	1,15	0,3420
RESIDUAL	70	4,5565	6,5093E-02		



TABLA 20.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la relación hepatosomática por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
53	3,374	I
52	3,255	I
14	3,185	I
51	3,114	I
15	3,098	I
43	3,063	I
16	3,060	I
42	3,048	I
41	3,018	I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 20.3. Análisis de varianza de la relación hepatosomática.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	9,2598E-01	1,8520E-01	2,66	0,0336
SEXO (B)	1	1,0092E-01	1,0092E-01	1,45	0,2346
A*B	5	3,5940E-01	7,1880E-02	1,03	0,4096
RESIDUAL	48	3,3429	6,9643E-02		

TABLA 20.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la relación hepatosomática por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	3,404	I
4	3,185	I I
1	3,183	I I
5	3,098	I I
6	3,060	I I
2	3,026	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 21. Influencia de las distintas dietas sobre la composición del hígado en sustancia fresca (SF).
Los valores se expresan como la media aritmética \pm EEM

DIETA	GRASA %	PROTEINA %	MINERALES %	HUMEDAD %
S10 O4	6,43 \pm 0,57	21,16 \pm 0,42	1,55 \pm 0,03	70,43 \pm 0,40
S10 M4	7,65 \pm 1,17	23,64 \pm 0,40	1,67 \pm 0,03	68,09 \pm 0,92
S10 P4	8,96 \pm 1,50	21,19 \pm 0,50	1,39 \pm 0,05	68,68 \pm 1,16
F10 O4	6,57 \pm 0,85	21,74 \pm 0,33	1,56 \pm 0,06	70,98 \pm 0,58
F10 M4	7,74 \pm 1,64	22,64 \pm 0,48	1,41 \pm 0,03	68,52 \pm 1,25
F10 P4	7,42 \pm 1,31	21,93 \pm 0,56	1,41 \pm 0,03	69,15 \pm 0,70
G10 O4	5,83 \pm 0,23	23,24 \pm 0,38	1,77 \pm 0,14	69,69 \pm 0,32
G10 M4	9,16 \pm 1,14	21,70 \pm 0,23	1,44 \pm 0,04	67,85 \pm 0,88
G10 P4	7,67 \pm 0,70	22,18 \pm 0,25	2,03 \pm 0,12	69,40 \pm 0,54
S30 O4	7,41 \pm 1,36	22,39 \pm 0,33	1,44 \pm 0,07	68,92 \pm 0,95
S30 M4	9,77 \pm 1,18	21,81 \pm 0,36	1,89 \pm 0,09	67,25 \pm 0,87
S30 P4	7,58 \pm 1,02	21,88 \pm 0,27	1,78 \pm 0,06	69,14 \pm 0,67
GF30 O4	7,59 \pm 1,32	23,59 \pm 0,41	1,53 \pm 0,04	68,47 \pm 0,96
GF30 M4	8,37 \pm 1,46	22,18 \pm 0,45	1,70 \pm 0,14	69,11 \pm 1,08
GF30 P4	10,46 \pm 1,25	21,30 \pm 0,28	1,98 \pm 0,14	67,03 \pm 0,80
S10 O13	6,89 \pm 0,68	22,96 \pm 0,47	1,55 \pm 0,04	69,15 \pm 0,54
S10 M13	7,52 \pm 0,39	23,02 \pm 0,47	1,48 \pm 0,04	69,34 \pm 0,39
S10 P13	7,67 \pm 0,58	22,73 \pm 0,36	1,77 \pm 0,12	68,70 \pm 0,51

Bloque experimental I

TABLA 21.1. Análisis de varianza de la proporción de grasa en el hígado.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	44,109	11,027	1,27	0,2869
GRASA (B)	2	89,041	44,520	5,11	0,0076
SEXO (C)	1	677,96	677,96	77,82	0,0000
A*B	8	61,568	7,6960	0,88	0,5337
B*C	2	26,874	13,437	1,54	0,2165
A*C	4	17,318	4,3294	0,50	0,7409
A*B*C	8	62,443	7,8053	0,90	0,5233
RESIDUAL	117	1019,4	8,7125		

TABLA 21.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proporción de grasa en el hígado por azucar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	8,755	I
4	8,161	I
1	7,683	I
3	7,445	I
2	7,248	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 21.1.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proporción de grasa en el hígado por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	8,419	I
3	8,387	I
1	6,769	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental II

TABLA 21.2. Análisis de varianza de la proporción de grasa en el hígado.

ANALISIS DE VARIANZA DE GRHI

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	98,173	12,272	1,46	0,1867
SEXO (B)	1	272,90	272,90	32,49	0,0000
A*B	8	58,505	7,3131	0,87	0,5463
RESIDUAL	70	587,98	8,3997		

TABLA 21.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proporción de grasa en el hígado por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
53	10,30	I
42	9,494	I
52	8,371	I
16	7,672	I
51	7,598	I
43	7,580	I
15	7,520	I
41	7,410	I
14	6,893	I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 21.3. Análisis de varianza de la proporción de grasa en el hígado.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	37,030	7,4061	1,41	0,2389
SEXO (B)	1	114,73	114,73	21,79	0,0000
A*B	5	75,124	15,025	2,85	0,0247
RESIDUAL	48	252,78	5,2663		

TABLA 21.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proporción de grasa en el hígado por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	8,963	I
6	7,672	I
2	7,656	I
5	7,520	I
4	6,893	I
1	6,431	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 22. Influencia de las diferentes dietas sobre la composición del hígado en sustancia seca (SS).
Los resultados se expresan como la media aritmética \pm EEM.

DIETA	GRASA %	PROTEINA %	MINERALES %
S10 O4	21,61 \pm 1,68	71,72 \pm 1,71	5,25 \pm 0,12
S10 M4	23,37 \pm 2,84	74,71 \pm 2,61	5,27 \pm 0,16
S10 P4	27,46 \pm 3,56	68,93 \pm 3,79	4,52 \pm 0,28
F10 O4	22,25 \pm 2,41	75,21 \pm 1,83	5,40 \pm 0,25
F10 M4	23,44 \pm 3,40	73,04 \pm 3,24	4,56 \pm 0,19
F10 P4	23,39 \pm 3,52	71,70 \pm 3,08	4,60 \pm 0,15
G10 O4	19,23 \pm 0,73	76,70 \pm 1,00	5,86 \pm 0,48
G10 M4	27,88 \pm 2,82	67,94 \pm 2,14	4,51 \pm 0,14
G10 P4	24,81 \pm 1,76	72,78 \pm 1,81	6,67 \pm 0,45
S30 O4	23,00 \pm 3,25	72,64 \pm 2,40	4,70 \pm 0,29
S30 M4	29,26 \pm 2,79	67,16 \pm 2,65	5,85 \pm 0,39
S30 P4	24,07 \pm 2,66	71,29 \pm 2,05	5,80 \pm 0,20
GF30 O4	23,29 \pm 3,01	75,49 \pm 2,65	4,90 \pm 0,22
GF30 M4	26,09 \pm 3,32	72,75 \pm 3,17	5,59 \pm 0,52
GF30 P4	31,17 \pm 2,98	65,01 \pm 2,11	6,09 \pm 0,53
S10 O13	22,19 \pm 1,96	74,59 \pm 1,77	5,02 \pm 0,12
S10 M13	24,45 \pm 1,07	75,27 \pm 2,14	4,83 \pm 0,13
S10 P13	24,36 \pm 1,55	72,78 \pm 1,50	5,71 \pm 0,51

Bloque experimental I

TABLA 22.1. Análisis de varianza de la proporción de grasa en el hígado (SS).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	250,72	62,681	1,37	0,2480
GRASA (B)	2	544,36	272,18	5,94	0,0036
SEXO (C)	1	4388,5	4388,5	95,84	0,0000
A*B	8	431,90	53,987	1,18	0,3173
B*C	2	177,10	88,548	1,93	0,1469
A*C	4	136,15	34,037	0,74	0,5670
A*B*C	8	365,74	45,718	1,00	0,4415
RESIDUAL	117	5357,4	45,790		

TABLA 22.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proporción de grasa en el hígado (SS) por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	26,72	I
4	25,22	I
1	24,15	I
3	23,71	I
2	23,03	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 22.1.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proporción de grasa en el hígado (SS) por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	26,10	I
2	25,72	I
1	21,88	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental II

TABLA 22.2. Análisis de varianza de la proporción de grasa en el hígado (SS).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	634,50	79,312	1,72	0,1088
SEXO (B)	1	1743,9	1743,9	37,78	0,0000
A*B	8	350,44	43,805	0,95	0,4834
RESIDUAL	70	3231,5	46,165		



TABLA 22.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proporción de grasa en el hígado (SS) por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
53	30,78	I
42	28,59	I
52	26,10	I
15	24,45	I
16	24,36	I
43	24,07	I
51	23,30	I
41	23,00	I
14	22,19	I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 22.3. Análisis de varianza de la proporción de grasa en el hígado (SS).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	216,00	43,200	1,34	0,2626
SEXO (B)	1	795,72	795,72	24,73	0,0000
A*B	5	452,79	90,558	2,81	0,0262
RESIDUAL	48	1544,2	32,170		

TABLA 22.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la proporción de grasa en el hígado (SS) por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	27,46	I
5	24,45	I
6	24,36	I
2	23,37	I
4	22,19	I
1	21,62	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 23. Influencia de las diferentes dietas sobre las actividades de la aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa y fosfatasa alcalina plasmáticas. Los resultados se expresan como la media aritmética \pm EEM.

DIETA	ALAT (U/l)	ASAT (U/l)	FOSFATASA ALCALINA (U/l)
S10 O4	2,90 \pm 1,13	79,05 \pm 7,15	195,70 \pm 20,01
S10 M4	2,36 \pm 0,89	94,23 \pm 11,17	199,30 \pm 20,33
S10 P4	14,63 \pm 2,70	87,90 \pm 10,06	279,10 \pm 43,13
F10 O4	2,66 \pm 1,51	86,32 \pm 11,54	158,55 \pm 17,86
F10 M4	0,09 \pm 0,09	109,18 \pm 13,45	173,20 \pm 16,38
F10 P4	14,63 \pm 2,73	78,21 \pm 12,74	219,20 \pm 35,40
G10 O4	3,43 \pm 0,93	74,66 \pm 3,90	198,30 \pm 24,34
G10 M4	2,72 \pm 0,91	88,93 \pm 4,99	198,67 \pm 36,88
G10 P4	3,75 \pm 1,46	97,31 \pm 10,94	170,90 \pm 24,16
S30 O4	3,30 \pm 1,06	84,57 \pm 8,18	206,20 \pm 25,30
S30 M4	9,71 \pm 3,63	84,51 \pm 6,96	164,33 \pm 16,24
S30 P4	9,85 \pm 3,56	92,97 \pm 11,24	185,10 \pm 27,12
GF30 O4	8,74 \pm 3,00	93,62 \pm 8,16	217,30 \pm 27,21
GF30 M4	8,04 \pm 1,70	81,05 \pm 10,14	224,40 \pm 42,11
GF30 P4	20,32 \pm 4,26	86,81 \pm 11,42	274,11 \pm 37,76
S10 O13	5,38 \pm 1,92	78,04 \pm 7,07	194,40 \pm 29,19
S10 M13	3,29 \pm 1,25	80,75 \pm 9,63	198,80 \pm 37,25
S10 P13	14,07 \pm 1,46	93,95 \pm 8,79	321,50 \pm 64,79

Bloque experimental I

TABLA 23.1. Análisis de varianza de la actividad ALAT plasmática.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	1297,1	324,28	6,44	0,0001
GRASA (B)	2	2267,5	1133,8	22,51	0,0000
SEXO (C)	1	75,473	75,473	1,50	0,2234
A*B	8	1097,7	137,21	2,72	0,0087
B*C	2	97,219	48,610	0,96	0,3860
A*C	4	304,53	76,132	1,51	0,2021
A*B*C	8	274,40	34,300	0,68	0,7090
RESIDUAL	117	5894,1	50,377		

TABLA 23.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la actividad ALAT plasmática por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	12,33	I
4	7,460	I I
1	6,630	.. I
2	5,793	.. I
3	3,382	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 23.1.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la actividad ALAT plasmática por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	12,61	I
2	4,538	.. I
1	4,205	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 23.2. Análisis de varianza de la actividad PAL plasmática.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	8,1810E+04	2,0452E+04	10,40	0,0005
GRASA (B)	2	3,6186E+04	1,8093E+04	9,20	0,0003
SEXO (C)	1	7,6127E+05	7,6127E+05	387,15	0,0000
A*B	8	7,0659E+04	8832,4	4,49	0,0001
B*C	2	2,9292E+04	1,4646E+04	7,45	0,0010
A*C	4	2,8670E+04	7167,4	3,65	0,0079
A*B*C	8	5,2689E+04	6586,1	3,35	0,0018
RESIDUAL	117	2,3006E+05	1966,4		

TABLA 23.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la actividad PAL plasmática por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
5	242,3	I
1	224,7	I
3	192,4	.. I
4	186,6	.. I
2	183,7	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 23.2.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la actividad PAL plasmática por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	227,9	I
1	195,2	.. I
2	194,7	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental II

TABLA 23.3. Análisis de varianza de la actividad ALAT plasmática.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	2313,1	289,14	4,06	0,0005
SEXO (B)	1	14,702	14,702	0,21	0,6508
A*B	8	263,44	32,929	0,46	0,8785
RESIDUAL	70	4980,3	71,147		

TABLA 23.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la actividad ALAT plasmática por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
53	20,21	I
16	14,07	I I
43	9,850	I I
42	9,235	I I
51	8,740	I I
52	8,040	.. I
14	5,380	.. I
41	3,295	.. I
15	3,290	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 23.4. Análisis de varianza de la actividad PAL plasmática.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	1,9688E+05	2,4610E+04	10,02	0,0001
SEXO (B)	1	7,5543E+05	7,5543E+05	307,68	0,0001
A*B	8	1,3631E+05	1,7038E+04	6,94	0,0001
RESIDUAL	70	1,7187E+05	2455,2		

TABLA 23.4.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la actividad PAL plasmática por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
16	321,5	I
53	285,1	I I
52	224,4	.. I I
51	217,3	.. I I
41	206,2 I
15	198,8 I
14	194,4 I
43	185,1 I
42	168,5 I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 23.5. Análisis de varianza de la actividad ALAT plasmática.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	1628,6	325,73	10,71	0,0001
SEXO (B)	1	26,800	26,800	0,88	0,3525
A*B	5	21,211	4,2422	0,14	0,9822
RESIDUAL	48	1459,6	30,409		

TABLA 23.5.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la actividad ALAT plasmática por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	14,63	I
6	14,07	I
4	5,380	.. I
5	3,290	.. I
1	2,900	.. I
2	2,360	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 23.6. Análisis de varianza de la actividad PAL plasmática.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	1,5130E+05	3,0260E+04	9,09	0,0001
SEXO (B)	1	5,0453E+05	5,0453E+05	151,58	0,0001
A*B	5	1,5573E+05	3,1145E+04	9,36	0,0001
RESIDUAL	48	1,5977E+05	3328,5		

TABLA 23.6.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de la actividad PAL plasmática por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
6	321,5	I
3	279,1	I
2	199,3	.. I
5	198,8	.. I
1	195,7	.. I
4	194,4	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 24. Influencia de las diferentes dietas sobre las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, colesterol, HDL-colesterol y fosfolípidos. Los resultados se expresan como la media aritmética \pm EEM.

DIETA	TRIGLICÉRIDOS (mg/dl)	COLESTEROL (mg/dl)	HDL- COLESTEROL (mg/dl)	FOSFOLÍPIDOS (mg/dl)
S10 O4	60,50 \pm 8,03	60,30 \pm 2,04	35,70 \pm 1,80	104,50 \pm 3,15
S10 M4	35,00 \pm 4,67	50,30 \pm 5,09	38,40 \pm 2,12	88,30 \pm 7,92
S10 P4	116,80 \pm 27,81	63,50 \pm 4,48	38,70 \pm 3,31	116,60 \pm 7,75
F10 O4	63,30 \pm 7,58	62,30 \pm 3,04	33,70 \pm 2,78	105,80 \pm 4,59
F10 M4	36,50 \pm 3,13	56,70 \pm 2,96	35,11 \pm 3,69	101,60 \pm 4,22
F10 P4	122,50 \pm 16,06	62,40 \pm 3,72	37,90 \pm 2,04	111,10 \pm 5,16
G10 O4	61,00 \pm 9,66	58,40 \pm 2,04	30,60 \pm 2,71	102,80 \pm 1,67
G10 M4	45,89 \pm 4,25	55,78 \pm 3,41	37,56 \pm 2,35	90,00 \pm 4,67
G10 P4	78,20 \pm 10,40	60,20 \pm 3,33	36,30 \pm 1,98	109,40 \pm 5,30
S30 O4	51,50 \pm 4,30	60,80 \pm 1,68	31,10 \pm 0,98	110,60 \pm 4,71
S30 M4	72,44 \pm 7,99	56,22 \pm 2,36	30,89 \pm 2,43	97,78 \pm 3,40
S30 P4	69,40 \pm 8,67	64,20 \pm 4,27	36,10 \pm 2,66	109,70 \pm 4,87
GF30 O4	55,20 \pm 3,61	60,90 \pm 2,47	39,00 \pm 1,91	107,30 \pm 2,45
GF30 M4	74,80 \pm 12,44	55,00 \pm 3,00	36,70 \pm 3,18	99,40 \pm 3,59
GF30 P4	89,33 \pm 11,38	53,89 \pm 3,27	31,33 \pm 2,28	103,44 \pm 6,76
S10 O13	52,90 \pm 6,09	53,70 \pm 2,45	36,50 \pm 2,36	95,40 \pm 2,63
S10 M13	45,60 \pm 3,62	48,10 \pm 2,49	41,70 \pm 3,58	78,50 \pm 3,39
S10 P13	68,70 \pm 7,60	51,50 \pm 1,47	32,00 \pm 1,73	94,20 \pm 3,80

Bloque experimental I**TABLA 24.1.** Análisis de varianza de los triglicéridos plasmáticos.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	3568,8	892,21	0,92	0,4545
GRASA (B)	2	5,3728E+04	2,6864E+04	27,79	0,0001
SEXO (C)	1	2,2650E+04	2,2650E+04	23,43	0,0001
A*B	8	3,4346E+04	4293,3	4,44	0,0001
B*C	2	1,1317E+04	5658,4	5,85	0,0039
A*C	4	2632,3	658,06	0,68	0,6095
A*B*C	8	1,4627E+04	1828,4	1,89	0,0672
RESIDUAL	117	1,1309E+05	966,59		

TABLA 24.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de los triglicéridos plasmáticos por azucar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	74,10	I
5	73,96	I
1	70,77	I
4	64,78	I
3	62,11	I

Nivel de significación $p < 0,05$ **TABLA 24.1.2.** Test de Tukey de comparación de pares de medias de los triglicéridos plasmáticos por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	95,75	I
1	58,30	.. I
2	53,37	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$ **TABLA 24.2.** Análisis de varianza de los fosfolípidos plasmáticos.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	568,07	142,02	0,58	0,6828
GRASA (B)	2	5503,2	2751,6	11,18	0,0001
SEXO (C)	1	4,1667E-04	4,1667E-04	0,00	0,9990
A*B	8	2016,0	252,00	1,02	0,4222
B*C	2	473,29	236,65	0,96	0,3872
A*C	4	1194,2	298,54	1,21	0,3086
A*B*C	8	1809,7	226,22	0,92	0,5040
RESIDUAL	117	2,8789E+04	246,06		

TABLA 24.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de los fosfolípidos plasmáticos por azúcar.

AZUCAR	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
2	106,2	I
4	106,1	I
5	103,3	I
1	103,1	I
3	101,1	I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 24.2.2. Test de Tukey de comparación de pares de medias de los fosfolípidos plasmáticos por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	110,0	I
1	106,2	I
2	95,67	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental II

TABLA 24.3. Análisis de varianza de los triglicéridos plasmáticos.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	1,7231E+04	2153,9	5,38	0,0000
SEXO (B)	1	8604,4	8604,4	21,49	0,0000
A*B	8	1,1195E+04	1399,4	3,50	0,0020
RESIDUAL	70	2,8026E+04	400,37		

TABLA 24.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de los triglicéridos plasmáticos por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
53	91,88	I
52	74,80	I I
42	73,42	I I I
43	69,40	I I I
16	68,70	I I I
51	55,20	.. I I
14	52,90	.. I I
41	51,50	.. I I
15	45,60 I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 24.4. Análisis de varianza de los fosfolípidos plasmáticos.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
DIETA (A)	8	7891,6	986,44	6,48	0,0001
SEXO (B)	1	328,71	328,71	2,16	0,1463
A*B	8	1932,9	241,61	1,59	0,1440
RESIDUAL	70	1,0661E+04	152,30		

TABLA 24.4.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de los fosfolípidos plasmáticos por experimento.

DIETA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
41	110,6	I
43	109,7	I
51	107,3	I
53	103,1	I
52	99,40	I
42	98,00	I
14	95,40	I I
16	94,20	I I
15	78,50	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 24.5. Análisis de varianza de los triglicéridos plasmáticos.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	4,1216E+04	8243,1	6,63	0,0001
SEXO (B)	1	6762,8	6762,8	5,44	0,0240
A*B	5	2,0605E+04	4121,0	3,31	0,0119
RESIDUAL	48	5,9712E+04	1244,0		

TABLA 24.5.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de los triglicéridos plasmáticos por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	116,8	I
6	68,70	.. I
1	60,50	.. I
4	52,90	.. I
5	45,60	.. I
2	35,00	.. I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 24.6. Análisis de varianza de los fosfolípidos plasmáticos.

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	8653,7	1730,7	5,95	0,0002
SEXO (B)	1	14,017	14,017	0,05	0,8272
A*B	5	926,28	185,26	0,64	0,6725
RESIDUAL	48	1,3961E+04	290,86		

TABLA 24.6.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de los fosfolípidos plasmáticos por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	116,6	I
1	104,5	I I
4	95,40	I I I
6	94,20	I I I
2	88,30	.. I I
5	78,50 I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 25. Influencia de las diferentes dietas sobre la proteinemia y la uricemia. Los resultados se representan como la media aritmética \pm EEM

DIETA	Proteínas totales (g/dl)	Ácido úrico (mg/dl)
S10 O4	5,06 \pm 0,06	1,81 \pm 0,30
S10 M4	4,68 \pm 0,20	1,68 \pm 0,48
S10 P4	5,45 \pm 0,12	1,62 \pm 0,29
F10 O4	5,17 \pm 0,11	1,49 \pm 0,23
F10 M4	5,48 \pm 0,11	1,93 \pm 0,35
F10 P4	5,29 \pm 0,09	1,57 \pm 0,27
G10 O4	5,23 \pm 0,09	1,32 \pm 0,24
G10 M4	5,10 \pm 0,11	1,24 \pm 0,14
G10 P4	5,29 \pm 0,08	1,06 \pm 0,16
S30 O4	5,49 \pm 0,13	1,23 \pm 0,20
S30 M4	5,26 \pm 0,09	1,17 \pm 0,20
S30 P4	5,26 \pm 0,09	1,81 \pm 0,30
GF30 O4	5,35 \pm 0,09	1,48 \pm 0,27
GF30 M4	5,46 \pm 0,14	1,55 \pm 0,16
GF30 P4	5,56 \pm 0,09	1,35 \pm 0,25
S10 O13	5,45 \pm 0,08	1,20 \pm 0,16
S10 M13	4,82 \pm 0,14	1,76 \pm 0,32
S10 P13	5,43 \pm 0,15	1,41 \pm 0,28

TABLA 26. Concentración de los ácidos grasos de los lípidos totales plasmáticos (mg/ml). Los resultados se representan como la media aritmética \pm EEM.

DIETA	S10 O4	S10 M4	S10 P4	F10 O4	F10 M4	F10 P4
C12	n.d.	0,002 $\pm 0,001$	0,032 $\pm 0,003$	n.d.	n.d.	0,017 $\pm 0,004$
C14	0,035 $\pm 0,003$	0,027 $\pm 0,003$	0,062 $\pm 0,005$	0,038 $\pm 0,004$	0,025 $\pm 0,002$	0,049 $\pm 0,005$
C16	0,909 $\pm 0,061$	0,720 $\pm 0,061$	0,902 $\pm 0,061$	1,060 $\pm 0,068$	0,720 $\pm 0,024$	0,759 $\pm 0,109$
C16:1	0,163 $\pm 0,010$	0,114 $\pm 0,016$	0,213 $\pm 0,017$	0,197 $\pm 0,018$	0,112 $\pm 0,010$	0,176 $\pm 0,025$
C18	0,654 $\pm 0,040$	0,543 $\pm 0,028$	0,645 $\pm 0,059$	0,698 $\pm 0,040$	0,588 $\pm 0,055$	0,599 $\pm 0,027$
C18:1	1,296 $\pm 0,066$	0,752 $\pm 0,056$	1,151 $\pm 0,063$	1,399 $\pm 0,118$	0,662 $\pm 0,044$	1,023 $\pm 0,092$
C18:2 ω 6	0,362 $\pm 0,036$	0,368 $\pm 0,042$	0,341 $\pm 0,037$	0,395 $\pm 0,037$	0,395 $\pm 0,022$	0,295 $\pm 0,046$
C18:3 ω 3	0,005 $\pm 0,003$	0,003 $\pm 0,003$	n.d.	0,011 $\pm 0,005$	n.d.	0,001 $\pm 0,001$
C18:3 ω 6	0,020 $\pm 0,008$	0,004 $\pm 0,004$	0,005 $\pm 0,004$	0,017 $\pm 0,005$	0,007 $\pm 0,005$	0,005 $\pm 0,003$
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	0,002 $\pm 0,001$	n.d.	n.d.	0,003 $\pm 0,002$
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	0,011 $\pm 0,004$	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	0,021 $\pm 0,006$	n.d.	0,045 $\pm 0,008$	0,034 $\pm 0,004$	n.d.	0,045 $\pm 0,008$
C20:3 ω 6	0,032 $\pm 0,007$	0,009 $\pm 0,005$	0,040 $\pm 0,007$	0,011 $\pm 0,007$	0,011 $\pm 0,004$	0,025 $\pm 0,007$
C20:4 ω 6	0,460 $\pm 0,028$	0,511 $\pm 0,031$	0,477 $\pm 0,046$	0,596 $\pm 0,045$	0,508 $\pm 0,031$	0,477 $\pm 0,017$
C20:5 ω 3	0,002 $\pm 0,001$	n.d.	n.d.	0,003 $\pm 0,001$	0,002 $\pm 0,002$	n.d.
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	0,002 $\pm 0,002$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	0,070 $\pm 0,009$	0,054 $\pm 0,006$	0,068 $\pm 0,006$	0,071 $\pm 0,005$	0,058 $\pm 0,007$	0,062 $\pm 0,003$

TABLA 26. (Continuación).

DIETA	G10 O4	G10 M4	G10 P4	S30 O4	S30 M4	S30 P4
C12	n.d.	n.d.	0,024 ±0,002	n.d.	0,002 ±0,002	0,018 ±0,002
C14	0,032 ±0,003	0,027 ±0,002	0,058 ±0,005	0,028 ±0,002	0,023 ±0,003	0,041 ±0,004
C16	0,919 ±0,078	0,759 ±0,041	0,952 ±0,074	0,929 ±0,061	0,741 ±0,045	0,768 ±0,064
C16:1	0,172 ±0,026	0,111 ±0,008	0,231 ±0,026	0,173 ±0,020	0,118 ±0,012	0,173 ±0,027
C18	0,643 ±0,027	0,581 ±0,034	0,593 ±0,046	0,656 ±0,061	0,549 ±0,040	0,588 ±0,035
C18:1	1,352 ±0,161	0,755 ±0,038	1,191 ±0,128	1,316 ±0,114	0,790 ±0,068	0,895 ±0,100
C18:2 ω 6	0,304 ±0,034	0,411 ±0,044	0,352 ±0,030	0,329 ±0,023	0,418 ±0,034	0,301 ±0,043
C18:3 ω 3	0,004 ±0,004	n.d.	0,006 ±0,003	n.d.	0,004 ±0,004	0,001 ±0,001
C18:3 ω 6	0,020 ±0,009	n.d.	0,017 ±0,005	0,017 ±0,005	0,002 ±0,002	0,016 ±0,004
C18:4 ω 3	0,004 ±0,002	n.d.	0,002 ±0,002	0,004 ±0,003	0,002 ±0,001	0,001 ±0,001
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	0,001 ±0,001	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	0,020 ±0,007	n.d.	0,025 ±0,005	0,028 ±0,006	0,002 ±0,002	0,038 ±0,009
C20:3 ω 6	0,006 ±0,003	0,010 ±0,005	0,020 ±0,005	0,010 ±0,007	0,006 ±0,004	0,026 ±0,011
C20:4 ω 6	0,546 ±0,027	0,515 ±0,017	0,550 ±0,036	0,565 ±0,046	0,510 ±0,021	0,505 ±0,034
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,001 ±0,001
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	0,016 ±0,007	n.d.	0,002 ±0,002	n.d.	0,002 ±0,002	0,007 ±0,004
C22:6 ω 3	0,060 ±0,005	0,064 ±0,003	0,071 ±0,006	0,055 ±0,006	0,049 ±0,002	0,063 ±0,003

TABLA 26. (Continuación).

DIETA	GF30 O4	GF30 M4	GF30 P4	S10 O13	S10 M13	S10 P13
C12	0,001 ±0,001	0,003 ±0,002	0,018 ±0,003	0,001 ±0,001	0,010 ±0,002	0,044 ±0,005
C14	0,024 ±0,002	0,026 ±0,005	0,041 ±0,005	0,022 ±0,003	0,026 ±0,002	0,059 ±0,006
C16	0,747 ±0,026	0,828 ±0,103	0,870 ±0,086	0,759 ±0,064	0,745 ±0,052	0,700 ±0,057
C16:1	0,118 ±0,012	0,127 ±0,026	0,177 ±0,023	0,051 ±0,007	0,056 ±0,007	0,106 ±0,011
C18	0,611 ±0,062	0,551 ±0,051	0,585 ±0,051	0,620 ±0,049	0,508 ±0,033	0,482 ±0,037
C18:1	1,078 ±0,047	0,859 ±0,140	1,118 ±0,158	1,210 ±0,117	0,651 ±0,059	0,783 ±0,077
C18:2 ω 6	0,256 ±0,014	0,418 ±0,057	0,229 ±0,024	0,277 ±0,032	0,604 ±0,066	0,213 ±0,018
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	0,021 ±0,009	0,029 ±0,011	0,007 ±0,003	n.d.
C18:3 ω 6	n.d.	0,004 ±0,004	0,003 ±0,003	n.d.	0,005 ±0,004	n.d.
C18:4 ω 3	n.d.	0,002 ±0,002	n.d.	n.d.	0,002 ±0,002	n.d.
C20:1	n.d.	0,010 ±0,003	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	0,058 ±0,028	0,007 ±0,004	0,062 ±0,014	0,006 ±0,004	n.d.	0,037 ±0,007
C20:3 ω 6	0,011 ±0,004	n.d.	0,023 ±0,007	0,004 ±0,003	0,006 ±0,003	0,022 ±0,005
C20:4 ω 6	0,553 ±0,042	0,532 ±0,036	0,486 ±0,043	0,469 ±0,026	0,514 ±0,045	0,392 ±0,037
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,001 ±0,001	n.d.
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	0,016 ±0,007	0,006 ±0,006	n.d.	0,002 ±0,002	n.d.
C22:6 ω 3	0,055 ±0,003	0,044 ±0,005	0,053 ±0,005	0,065 ±0,005	0,063 ±0,003	0,054 ±0,006

TABLA 27. Composición porcentual de ácidos grasos de los fosfolípidos plasmáticos. Los resultados se representan como la media aritmética \pm EEM.

DIETA	S10 O4	S10 M4	S10 P4	F10 O4	F10 M4	F10 P4
C12	0,063 $\pm 0,063$	0,127 $\pm 0,070$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C14	0,712 $\pm 0,325$	0,730 $\pm 0,094$	0,493 $\pm 0,203$	0,724 $\pm 0,147$	0,403 $\pm 0,082$	0,840 $\pm 0,101$
C16	27,459 $\pm 1,391$	25,766 $\pm 0,877$	25,404 $\pm 0,651$	26,818 $\pm 1,004$	27,813 $\pm 2,030$	24,931 $\pm 1,098$
C16:1	0,167 $\pm 0,112$	0,479 $\pm 0,095$	1,893 $\pm 0,161$	0,106 $\pm 0,106$	0,692 $\pm 0,187$	1,659 $\pm 0,078$
C18	31,494 $\pm 2,598$	30,495 $\pm 2,821$	28,540 $\pm 1,611$	30,017 $\pm 2,512$	31,047 $\pm 1,805$	28,378 $\pm 1,432$
C18:1	23,214 $\pm 1,751$	18,391 $\pm 1,987$	20,844 $\pm 0,567$	25,004 $\pm 2,687$	16,330 $\pm 1,284$	19,031 $\pm 0,647$
C18:2 ω 6	6,670 $\pm 0,897$	10,792 $\pm 0,635$	7,950 $\pm 0,932$	6,452 $\pm 1,038$	10,175 $\pm 0,543$	8,713 $\pm 0,606$
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	0,171 $\pm 0,171$	n.d.	n.d.
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,114 $\pm 0,114$
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	n.d.	n.d.	1,319 $\pm 0,245$	n.d.	n.d.	1,030 $\pm 0,123$
C20:3 ω 6	n.d.	0,464 $\pm 0,243$	1,573 $\pm 0,281$	n.d.	0,418 $\pm 0,285$	0,996 $\pm 0,252$
C20:4 ω 6	9,516 $\pm 1,296$	11,481 $\pm 0,816$	10,995 $\pm 0,533$	10,066 $\pm 1,165$	11,829 $\pm 1,230$	14,112 $\pm 0,941$
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	0,707 $\pm 0,362$	1,280 $\pm 0,195$	0,989 $\pm 0,511$	0,714 $\pm 0,237$	1,213 $\pm 0,199$	n.d.

TABLA 27. (Continuación).

DIETA	G10 O4	G10 M4	G10 P4	S30 O4	S30 M4	S30 P4
C12	0,063 ±0,063	0,040 ±0,040	0,226 ±0,148	0,134 ±0,090	n.d.	0,152 ±0,080
C14	0,308 ±0,107	0,266 ±0,070	0,953 ±0,093	0,571 ±0,349	0,524 ±0,169	0,817 ±0,092
C16	25,121 ±0,730	27,193 ±1,225	25,374 ±0,903	25,038 ±1,299	27,004 ±0,890	27,307 ±1,354
C16:1	0,762 ±0,106	1,024 ±0,155	1,900 ±0,227	0,516 ±0,147	1,136 ±0,136	1,618 ±0,221
C18	29,556 ±2,092	30,782 ±2,887	26,124 ±1,600	29,630 ±2,368	29,565 ±1,802	20,157 ±2,241
C18:1	20,167 ±0,786	14,000 ±0,873	18,532 ±1,030	20,392 ±1,440	16,633 ±0,828	17,321 ±0,738
C18:2 ω 6	7,767 ±1,054	11,035 ±0,946	9,116 ±0,610	8,822 ±0,782	9,469 ±0,800	10,652 ±0,991
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3 ω 6	n.d.	n.d.	0,116 ±0,079	n.d.	n.d.	n.d.
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	0,122 ±0,122	n.d.	0,965 ±0,298	0,300 ±0,154	n.d.	0,994 ±0,258
C20:3 ω 6	n.d.	n.d.	0,969 ±0,181	n.d.	0,058 ±0,058	0,953 ±0,371
C20:4 ω 6	14,109 ±0,908	14,423 ±0,632	15,724 ±1,163	13,141 ±1,169	14,472 ±0,412	18,294 ±1,124
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	2,023 ±0,265	1,687 ±0,128	n.d.	1,453 ±0,243	1,137 ±0,384	1,673 ±0,687

TABLA 27. (Continuación).

DIETA	GF30 O4	GF30 M4	GF30 P4	S10 O13	S10 M13	S10 P13
C12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,093 ±0,064
C14	0,183 ±0,127	0,849 ±0,248	1,239 ±0,134	0,322 ±0,085	0,548 ±0,198	1,597 ±0,091
C16	28,307 ±1,433	30,616 ±1,563	26,765 ±1,050	27,186 ±1,336	27,721 ±1,348	28,823 ±0,663
C16:1	0,294 ±0,152	0,561 ±0,233	1,263 ±0,235	0,152 ±0,087	0,084 ±0,084	0,347 ±0,121
C18	33,907 ±2,393	28,336 ±1,211	25,365 ±1,342	37,867 ±3,161	28,721 ±1,561	24,761 ±0,943
C18:1	19,644 ±1,004	21,643 ±1,564	20,765 ±0,980	16,689 ±1,698	15,518 ±1,426	20,085 ±0,681
C18:2 ω 6	6,964 ±0,607	7,724 ±0,617	5,249 ±0,448	6,847 ±0,462	12,464 ±0,670	6,645 ±0,696
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,138 ±0,104	n.d.
C18:3 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:4 ω 3	n.d.	0,130 ±0,130	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	0,209 ±0,122	n.d.	1,385 ±0,411	0,044 ±0,044	n.d.	0,814 ±0,330
C20:3 ω 6	n.d.	0,148 ±0,101	1,254 ±0,460	0,293 ±0,153	0,136 ±0,097	0,721 ±0,310
C20:4 ω 6	9,711 ±0,660	9,562 ±1,276	15,933 ±1,405	9,587 ±0,831	13,448 ±0,749	15,174 ±1,160
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	0,118 ±0,118	0,048 ±0,048	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	0,780 ±0,141	0,422 ±0,302	0,932 ±0,618	0,896 ±0,212	1,274 ±0,674	0,989 ±0,660

TABLA 28. Composición porcentual de los ácidos grasos libres plasmáticos. Los resultados se representan como la media aritmética \pm EEM.

DIETA	S10 O4	S10 M4	S10 P4	F10 O4	F10 M4	F10 P4
C12	n.d.	0,422 $\pm 0,219$	0,782 $\pm 0,252$	n.d.	0,278 $\pm 0,171$	1,513 $\pm 0,396$
C14	2,293 $\pm 0,182$	2,687 $\pm 0,251$	3,588 $\pm 0,184$	2,148 $\pm 0,157$	2,273 $\pm 0,334$	3,768 $\pm 0,219$
C16	31,529 $\pm 1,721$	40,947 $\pm 2,041$	33,539 $\pm 1,399$	33,479 $\pm 2,349$	36,789 $\pm 1,473$	30,660 $\pm 0,384$
C16:1	1,844 $\pm 0,956$	4,899 $\pm 1,040$	8,524 $\pm 0,852$	3,822 $\pm 0,812$	6,915 $\pm 0,721$	8,821 $\pm 0,720$
C18	21,066 $\pm 2,146$	12,741 $\pm 1,071$	9,142 $\pm 1,263$	14,018 $\pm 1,667$	10,693 $\pm 0,753$	10,966 $\pm 1,370$
C18:1	38,571 $\pm 2,019$	26,999 $\pm 1,391$	38,797 $\pm 1,359$	41,323 $\pm 3,141$	31,674 $\pm 1,051$	37,214 $\pm 1,015$
C18:2 ω 6	4,683 $\pm 0,756$	10,681 $\pm 0,717$	5,497 $\pm 0,450$	5,153 $\pm 0,845$	11,081 $\pm 0,586$	6,834 $\pm 0,576$
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 6	n.d.	n.d.	0,074 $\pm 0,074$	n.d.	n.d.	0,161 $\pm 0,111$
C20:4 ω 6	n.d.	0,149 $\pm 0,103$	n.d.	n.d.	0,274 $\pm 0,153$	0,041 $\pm 0,041$
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	n.d.	0,026 $\pm 0,026$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

TABLA 28. (Continuación).

DIETA	G10 O4	G10 M4	G10 P4	S30 O4	S30 M4	S30 P4
C12	n.d.	0,328 ±0,094	1,943 ±0,254	n.d.	0,155 ±0,076	1,679 ±0,307
C14	1,743 ±0,152	2,254 ±0,271	3,600 ±0,217	1,485 ±0,142	2,127 ±0,107	3,601 ±0,272
C16	27,487 ±0,866	33,052 ±0,706	29,908 ±0,501	28,506 ±0,548	32,291 ±0,483	32,369 ±1,048
C16:1	6,881 ±0,439	6,596 ±0,979	9,585 ±0,604	5,865 ±0,542	7,404 ±0,586	10,803 ±0,513
C18	6,189 ±0,521	8,102 ±0,953	7,906 ±1,176	7,944 ±0,804	9,896 ±1,209	1,678 ±0,374
C18:1	50,601 ±1,660	35,222 ±0,882	39,190 ±0,925	49,443 ±0,953	36,688 ±0,779	40,188 ±1,250
C18:2 ω 6	6,526 ±0,527	12,170 ±0,784	7,326 ±0,446	6,395 ±0,787	10,753 ±0,929	9,277 ±0,741
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3 ω 6	n.d.	n.d.	0,226 ±0,144	n.d.	0,041 ±0,041	0,056 ±0,056
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,189 ±0,189	n.d.
C20:3 ω 9	n.d.	0,039 ±0,039	n.d.	n.d.	n.d.	0,287 ±0,145
C20:3 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:4 ω 6	0,577 ±0,202	0,784 ±0,291	0,168 ±0,120	0,350 ±0,158	0,398 ±0,283	0,200 ±0,200
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	n.d.	0,049 ±0,049	0,119 ±0,119	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	n.d.	0,117 ±0,070	n.d.	n.d.	0,047 ±0,032	n.d.

TABLA 28. (Continuación).

DIETA	GF30 O4	GF30 M4	GF30 P4	S10 O13	S10 M13	S10 P13
C12	0,018 ±0,018	0,356 ±0,088	1,218 ±0,200	0,201 ±0,108	0,517 ±0,105	3,046 ±0,402
C14	2,175 ±0,138	2,275 ±0,190	3,611 ±0,238	2,119 ±0,234	1,798 ±0,331	5,183 ±0,256
C16	34,934 ±1,491	34,611 ±1,376	33,444 ±0,790	36,659 ±2,336	31,474 ±0,696	35,219 ±0,824
C16:1	4,928 ±0,444	5,369 ±0,684	6,710 ±0,489	2,261 ±0,610	3,952 ±0,471	5,452 ±0,490
C18	11,372 ±1,683	10,847 ±2,105	8,627 ±1,171	12,748 ±1,335	9,093 ±0,928	6,914 ±0,534
C18:1	43,511 ±1,955	35,134 ±0,970	42,678 ±1,588	40,649 ±3,092	35,282 ±0,693	39,694 ±0,900
C18:2 ω 6	3,048 ±0,714	10,855 ±1,398	3,532 ±0,636	5,230 ±0,634	17,883 ±1,291	4,487 ±0,883
C18:3 ω 3	n.d.	0,022 ±0,022	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3 ω 6	n.d.	0,029 ±0,029	n.d.	0,044 ±0,044	0,037 ±0,037	n.d.
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1	n.d.	0,128 ±0,128	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	n.d.	0,152 ±0,083	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 6	n.d.	0,045 ±0,045	n.d.	n.d.	0,051 ±0,051	n.d.
C20:4 ω 6	n.d.	0,096 ±0,096	0,187 ±0,094	n.d.	n.d.	n.d.
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	0,123 ±0,123	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	0,015 ±0,015	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

TABLA 29. Composición porcentual de ácidos grasos de los triglicéridos plasmáticos. Los resultados se representan como la media aritmética \pm EEM.

DIETA	S10 O4	S10 M4	S10 P4	F10 O4	F10 M4	F10 P4
C12	n.d.	0,939 $\pm 0,446$	0,103 $\pm 0,069$	n.d.	n.d.	0,387 $\pm 0,094$
C14	2,171 $\pm 0,223$	2,465 $\pm 0,490$	2,113 $\pm 0,095$	1,860 $\pm 0,305$	2,118 $\pm 0,226$	2,056 $\pm 0,188$
C16	35,418 $\pm 2,759$	34,078 $\pm 2,208$	31,360 $\pm 0,251$	31,087 $\pm 2,068$	30,321 $\pm 0,903$	29,738 $\pm 0,481$
C16:1	0,360 $\pm 0,250$	1,089 $\pm 0,483$	6,103 $\pm 0,789$	0,677 $\pm 0,350$	1,174 $\pm 0,614$	6,212 $\pm 0,464$
C18	24,593 $\pm 2,120$	15,113 $\pm 1,771$	9,119 $\pm 1,897$	17,412 $\pm 2,127$	15,324 $\pm 1,836$	7,993 $\pm 1,239$
C18:1	33,744 $\pm 4,079$	33,744 $\pm 2,535$	46,265 $\pm 0,532$	44,289 $\pm 2,245$	38,921 $\pm 1,494$	45,897 $\pm 1,623$
C18:2 ω 6	3,670 $\pm 0,309$	11,537 $\pm 1,277$	4,746 $\pm 0,764$	4,728 $\pm 0,910$	11,716 $\pm 1,064$	7,342 $\pm 0,516$
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,023 $\pm 0,023$
C18:3 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1	0,040 $\pm 0,040$	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	n.d.	0,321 $\pm 0,321$	0,160 $\pm 0,114$	0,203 $\pm 0,203$	0,325 $\pm 0,218$	0,153 $\pm 0,105$
C20:3 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,025 $\pm 0,025$
C20:4 ω 6	n.d.	0,175 $\pm 0,175$	n.d.	n.d.	0,112 $\pm 0,112$	n.d.
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

TABLA 29. (Continuación).

DIETA	G10 O4	G10 M4	G10 P4	S30 O4	S30 M4	S30 P4
C12	0,586 ±0,586	0,181 ±0,181	0,063 ±0,063	n.d.	0,013 ±0,013	0,297 ±0,117
C14	1,161 ±0,632	1,257 ±0,272	1,836 ±0,143	1,106 ±0,358	1,113 ±0,168	1,737 ±0,304
C16	31,222 ±2,322	29,187 ±1,413	23,376 ±3,935	28,609 ±1,222	32,157 ±0,701	32,255 ±0,625
C16:1	1,942 ±0,753	2,831 ±0,685	11,863 ±4,112	1,526 ±0,548	3,974 ±0,319	6,804 ±0,639
C18	7,394 ±2,687	11,404 ±2,390	8,368 ±1,682	11,748 ±1,941	9,755 ±1,387	1,482 ±0,916
C18:1	49,875 ±2,053	38,093 ±1,722	35,635 ±5,637	49,707 ±1,002	41,196 ±0,554	49,428 ±1,310
C18:2 ω 6	7,111 ±0,373	16,256 ±0,983	12,217 ±3,677	6,693 ±0,958	11,779 ±1,266	7,976 ±0,501
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3 ω 6	n.d.	n.d.	0,667 ±0,667	n.d.	n.d.	n.d.
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	n.d.	n.d.	0,134 ±0,134	0,257 ±0,174	n.d.	n.d.
C20:3 ω 6	n.d.	0,124 ±0,124	0,016 ±0,016	n.d.	n.d.	n.d.
C20:4 ω 6	0,704 ±0,208	0,426 ±0,426	0,130 ±0,130	0,292 ±0,150	n.d.	n.d.
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	n.d.	0,112 ±0,112	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	n.d.	n.d.	0,057 ±0,057	n.d.	n.d.	n.d.

TABLA 29. (Continuación).

DIETA	GF30 O4	GF30 M4	GF30 P4	S10 O13	S10 M13	S10 P13
C12	n.d.	0,020 ±0,020	0,219 ±0,071	n.d.	0,020 ±0,020	0,677 ±0,259
C14	0,820 ±0,339	2,177 ±0,224	2,175 ±0,176	1,187 ±0,291	0,866 ±0,364	3,037 ±0,207
C16	41,407 ±2,604	35,079 ±2,511	33,509 ±0,490	42,683 ±4,016	31,896 ±0,913	34,941 ±0,812
C16:1	1,000 ±0,471	1,735 ±0,705	5,137 ±0,435	0,253 ±0,185	1,162 ±0,411	2,738 ±0,439
C18	9,569 ±2,476	15,362 ±2,469	5,644 ±1,091	11,958 ±1,993	10,592 ±2,175	5,206 ±0,785
C18:1	41,955 ±2,388	37,036 ±2,202	50,357 ±1,084	38,472 ±4,090	36,987 ±1,537	49,756 ±0,801
C18:2 ω 6	5,202 ±1,233	7,275 ±1,509	2,954 ±0,409	5,171 ±0,396	18,316 ±2,248	3,643 ±0,361
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,099 ±0,099	n.d.
C18:3 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	n.d.	0,153 ±0,122	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 6	n.d.	0,132 ±0,094	n.d.	n.d.	0,060 ±0,060	n.d.
C20:4 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	0,163 ±0,122	n.d.	n.d.
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

TABLA 30. Composición porcentual de ácidos grasos de los ésteres de colesterol plasmáticos. Los resultados se representan como la media aritmética \pm EEM.

DIETA	S10 M4	S10 P4	F10 M4	F10P4
C12	0,233 $\pm 0,193$	n.d.	0,481 $\pm 0,279$	0,083 $\pm 0,043$
C14	1,680 $\pm 0,457$	1,298 $\pm 0,313$	1,926 $\pm 0,139$	2,248 $\pm 0,281$
C16	27,829 $\pm 2,057$	18,122 $\pm 1,575$	25,080 $\pm 1,364$	19,906 $\pm 2,022$
C16:1	1,960 $\pm 0,381$	10,694 $\pm 4,135$	3,442 $\pm 0,439$	6,401 $\pm 0,746$
C18	10,657 $\pm 2,175$	9,798 $\pm 1,876$	11,116 $\pm 1,221$	12,015 $\pm 2,162$
C18:1	24,299 $\pm 2,824$	25,834 $\pm 1,966$	24,921 $\pm 2,359$	24,977 $\pm 1,562$
C18:2 ω 6	15,601 $\pm 1,614$	8,250 $\pm 0,931$	12,473 $\pm 0,969$	8,555 $\pm 0,889$
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	n.d.	1,073 $\pm 0,360$	n.d.	1,220 $\pm 0,438$
C20:3 ω 6	0,274 $\pm 0,274$	0,241 $\pm 0,195$	n.d.	n.d.
C20:4 ω 6	17,223 $\pm 3,861$	24,665 $\pm 3,803$	20,254 $\pm 4,126$	24,450 $\pm 4,322$
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	0,158 $\pm 0,158$	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6 EE	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	0,093 $\pm 0,093$	n.d.	0,219 $\pm 0,117$	0,139 $\pm 0,139$

TABLA 30. (Continuación).

DIETA	G10 O4	G10 M4	G10 P4	S30 O4	S30 M4	S30 P4
C12	0,217 ±0,217	0,523 ±0,462	0,071 ±0,053	0,133 ±0,133	n.d.	0,089 ±0,059
C14	1,362 ±0,356	0,972 ±0,376	2,012 ±0,163	0,771 ±0,316	1,027 ±0,229	1,493 ±0,254
C16	17,842 ±1,011	17,464 ±1,448	17,639 ±1,520	21,551 ±1,499	20,516 ±1,696	14,988 ±1,871
C16:1	2,630 ±0,841	2,492 ±0,382	9,042 ±1,072	1,676 ±0,677	3,613 ±0,285	11,185 ±1,214
C18	6,956 ±1,571	7,249 ±1,051	7,503 ±2,098	10,797 ±2,377	12,785 ±1,801	1,883 ±1,105
C18:1	30,214 ±2,511	23,293 ±2,783	23,828 ±1,625	31,266 ±3,005	26,442 ±0,976	20,874 ±1,688
C18:2 ω 6	9,236 ±0,524	13,189 ±0,634	8,802 ±0,786	8,783 ±0,663	8,274 ±0,908	8,836 ±1,091
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:3 ω 6	0,220 ±0,220	n.d.	0,482 ±0,286	n.d.	0,058 ±0,058	0,785 ±0,409
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	0,218 ±0,218	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,897 ±0,301
C20:3 ω 6	n.d.	n.d.	0,103 ±0,103	n.d.	n.d.	n.d.
C20:4 ω 6	31,134 ±3,065	34,660 ±5,287	30,258 ±4,053	24,895 ±4,973	27,082 ±3,336	38,703 ±3,825
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	n.d.	0,494 ±0,131	n.d.	n.d.	0,200 ±0,105	0,274 ±0,187

TABLA 30. (Continuación).

DIETA	GF30 O4	GF30 M4	GF30 P4	S10 O13	S10 M13	S10 P13
C12	n.d.	0,063 ±0,063	0,119 ±0,119	n.d.	n.d.	n.d.
C14	1,270 ±0,500	1,792 ±0,206	2,211 ±0,198	1,343 ±0,343	1,286 ±0,301	2,596 ±0,108
C16	34,954 ±3,748	25,162 ±0,915	23,147 ±1,487	29,116 ±3,060	21,274 ±1,582	22,683 ±0,639
C16:1	0,851 ±0,525	2,880 ±0,464	5,963 ±0,609	0,815 ±0,625	0,955 ±0,235	4,156 ±1,008
C18	13,861 ±2,861	15,352 ±1,591	7,599 ±1,284	10,196 ±1,992	11,509 ±1,980	4,329 ±0,871
C18:1	26,631 ±2,968	27,972 ±1,553	32,825 ±1,476	31,109 ±2,730	23,000 ±2,413	28,539 ±1,140
C18:2 ω 6	9,921 ±1,103	7,190 ±1,077	3,436 ±0,661	8,433 ±0,973	11,473 ±1,274	4,954 ±0,904
C18:3 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,108 ±0,108	n.d.
C18:3 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,245 ±0,245	n.d.
C18:4 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1	n.d.	n.d.	n.d.	0,148 ±0,148	n.d.	n.d.
C20:3 ω 9	0,216 ±0,216	n.d.	0,109 ±0,109	n.d.	n.d.	0,071 ±0,071
C20:3 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:4 ω 6	11,942 ±1,705	19,587 ±1,903	24,589 ±2,312	18,762 ±2,427	30,048 ±4,836	31,408 ±2,439
C20:5 ω 3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:4 ω 6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:6 ω 3	0,221 ±0,215	n.d.	n.d.	0,077 ±0,077	n.d.	1,233 ±0,617

TABLA 31. Composición porcentual en saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y totales $\omega 6$ y $\omega 3$ de los ácidos grasos totales plasmáticos.

DIETA	SATURADOS	MONO- INSATURADOS	POLI- INSATURADOS	Total $\omega 6$	Total $\omega 3$
S10 O4	39,48±0,81	36,23±0,79	24,29±0,67	21,88±0,66	1,90±0,21
S10 M4	41,74±0,61	27,69±1,06	30,58±1,07	28,74±1,05	1,84±0,15
S10 P4	41,00±0,75	34,39±0,92	24,61±0,57	21,75±0,54	1,75±0,11
F10 O4	39,92±0,90	34,96±1,15	25,12±0,62	22,46±0,56	1,89±0,08
F10 M4	43,25±0,77	25,03±0,90	31,72±0,64	29,84±0,62	1,88±0,16
F10 P4	41,67±0,54	32,90±0,80	25,43±0,61	22,39±0,55	1,86±0,09
G10 O4	39,63±1,17	36,20±1,62	24,17±0,83	22,10±0,87	1,67±0,11
G10 M4	42,48±0,86	26,73±0,72	30,79±1,04	28,82±1,02	1,98±0,07
G10 P4	40,09±0,71	34,19±1,19	25,72±0,58	23,15±0,56	1,95±0,13
S30 O4	39,36±0,87	35,90±1,02	24,74±0,50	22,62±0,50	1,42±0,11
S30 M4	41,04±0,91	27,91±1,23	31,05±1,03	29,26±0,88	1,74±0,19
S30 P4	41,73±1,19	30,40±1,44	27,87±0,61	24,86±0,71	1,94±0,09
GF30 O4	39,41±1,51	34,09±1,10	26,50±0,80	23,26±0,85	1,56±0,09
GF30 M4	41,74±1,31	27,75±2,11	30,51±1,27	28,93±1,18	1,41±0,17
GF30 P4	41,59±0,86	34,27±1,22	24,14±0,53	20,51±0,55	1,96±0,17
S10 O13	40,13±1,12	35,50±1,08	24,37±0,60	21,53±0,50	2,66±0,24
S10 M13	40,87±1,16	21,83±0,64	37,31±1,06	35,05±1,03	2,25±0,16
S10 P13	44,54±0,45	30,45±0,96	25,01±0,79	21,82±0,76	1,85±0,14

TABLA 32. Composición porcentual en saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y totales $\omega 6$ y $\omega 3$ de los fosfolípidos plasmáticos.

DIETA	SATURADOS	MONO- INSATURADOS	POLI- INSATURADOS	Total $\omega 6$	Total $\omega 3$
S10 O4	59,73 \pm 2,24	23,38 \pm 1,70	16,89 \pm 2,10	16,19 \pm 1,76	0,71 \pm 0,36
S10 M4	57,12 \pm 2,45	18,87 \pm 2,04	24,02 \pm 1,08	22,74 \pm 0,96	1,28 \pm 0,19
S10 P4	54,44 \pm 1,44	22,74 \pm 0,56	22,83 \pm 1,47	20,52 \pm 1,08	0,99 \pm 0,51
F10 O4	57,56 \pm 2,66	25,11 \pm 2,68	17,40 \pm 1,80	16,69 \pm 1,72	0,71 \pm 0,24
F10 M4	59,26 \pm 1,20	17,02 \pm 1,29	23,63 \pm 1,23	22,42 \pm 1,05	1,21 \pm 0,20
F10 P4	54,15 \pm 0,38	20,69 \pm 0,65	24,96 \pm 0,57	23,82 \pm 0,56	0,11 \pm 0,11
G10 O4	55,05 \pm 1,92	20,93 \pm 0,76	24,02 \pm 1,95	21,88 \pm 1,71	2,02 \pm 0,27
G10 M4	58,28 \pm 2,19	15,02 \pm 1,00	27,15 \pm 1,36	25,46 \pm 1,27	1,69 \pm 0,13
G10 P4	52,68 \pm 1,03	20,43 \pm 1,04	26,89 \pm 1,30	25,92 \pm 1,20	0,00 \pm 0,00
S30 O4	55,37 \pm 1,77	20,91 \pm 1,42	23,72 \pm 1,68	21,96 \pm 1,44	1,45 \pm 0,24
S30 M4	57,09 \pm 0,97	17,77 \pm 0,86	25,14 \pm 1,27	24,00 \pm 1,14	1,14 \pm 0,38
S30 P4	48,43 \pm 1,21	18,94 \pm 0,90	32,57 \pm 1,08	29,90 \pm 0,52	1,67 \pm 0,69
GF30 O4	62,40 \pm 1,30	19,94 \pm 1,05	17,66 \pm 1,02	16,67 \pm 0,85	0,78 \pm 0,14
GF30 M4	59,80 \pm 1,53	22,20 \pm 1,46	17,99 \pm 1,85	17,43 \pm 1,64	0,55 \pm 0,31
GF30 P4	53,37 \pm 1,20	22,03 \pm 0,99	24,75 \pm 1,64	22,44 \pm 1,23	0,93 \pm 0,62
S10 O13	65,37 \pm 2,63	16,96 \pm 1,67	17,67 \pm 1,34	16,73 \pm 1,17	0,90 \pm 0,21
S10 M13	56,99 \pm 0,57	15,65 \pm 1,43	27,46 \pm 1,64	26,05 \pm 1,26	1,41 \pm 0,65
S10 P13	55,27 \pm 0,64	20,43 \pm 0,79	24,34 \pm 0,75	22,54 \pm 0,48	0,99 \pm 0,66

TABLA 33. Composición porcentual en saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y totales $\omega 6$ y $\omega 3$ de los ácidos grasos libres plasmáticos.

DIETA	SATURADOS	MONO-INSATURADOS	POLI-INSATURADOS	Total $\omega 6$	Total $\omega 3$
S10 O4	54,89 \pm 2,11	40,41 \pm 2,22	4,68 \pm 0,76	4,68 \pm 0,76	n.d.
S10 M4	56,80 \pm 2,63	31,90 \pm 2,13	10,86 \pm 0,78	10,83 \pm 0,77	n.d.
S10 P4	47,05 \pm 1,59	47,32 \pm 1,75	5,57 \pm 0,47	5,57 \pm 0,47	n.d.
F10 O4	49,65 \pm 3,56	45,14 \pm 3,54	5,15 \pm 0,84	5,15 \pm 0,84	n.d.
F10 M4	50,03 \pm 1,79	38,59 \pm 1,53	11,35 \pm 0,63	11,35 \pm 0,63	n.d.
F10 P4	46,91 \pm 1,57	46,04 \pm 1,39	7,04 \pm 0,59	7,04 \pm 0,59	n.d.
G10 O4	35,42 \pm 1,26	57,48 \pm 1,39	7,10 \pm 0,67	7,10 \pm 0,67	n.d.
G10 M4	43,74 \pm 0,80	41,87 \pm 1,30	13,11 \pm 0,99	12,95 \pm 0,94	n.d.
G10 P4	43,36 \pm 1,25	48,89 \pm 1,04	7,72 \pm 0,51	7,72 \pm 0,51	n.d.
S30 O4	37,93 \pm 0,84	55,31 \pm 0,78	6,74 \pm 0,85	6,74 \pm 0,85	n.d.
S30 M4	44,47 \pm 1,32	44,28 \pm 0,63	11,24 \pm 1,17	11,19 \pm 1,14	n.d.
S30 P4	39,33 \pm 1,16	50,99 \pm 1,20	9,82 \pm 0,82	9,53 \pm 0,71	n.d.
GF30 O4	48,50 \pm 2,18	48,44 \pm 1,91	3,06 \pm 0,72	3,05 \pm 0,71	n.d.
GF30 M4	48,09 \pm 2,27	40,63 \pm 1,30	11,32 \pm 1,57	11,15 \pm 1,55	n.d.
GF30 P4	46,90 \pm 1,94	49,39 \pm 1,65	3,72 \pm 0,60	3,72 \pm 0,60	n.d.
S10 O13	51,73 \pm 3,52	42,91 \pm 3,34	5,27 \pm 0,62	5,27 \pm 0,62	n.d.
S10 M13	42,88 \pm 1,29	39,23 \pm 0,69	17,97 \pm 1,31	17,97 \pm 1,31	n.d.
S10 P13	50,36 \pm 1,28	45,15 \pm 1,09	4,49 \pm 0,88	4,49 \pm 0,88	n.d.

TABLA 34. Composición porcentual en saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y totales $\omega 6$ y $\omega 3$ de los triglicéridos plasmáticos.

DIETA	SATURADOS	MONO-INSATURADOS	POLI-INSATURADOS	Total $\omega 6$	Total $\omega 3$
S10 O4	62,18 \pm 4,29	34,14 \pm 4,20	3,67 \pm 0,31	3,67 \pm 0,31	n.d.
S10 M4	52,59 \pm 2,54	34,83 \pm 2,65	12,03 \pm 1,42	11,71 \pm 1,37	n.d.
S10 P4	42,69 \pm 1,72	52,37 \pm 1,16	4,91 \pm 0,72	4,75 \pm 0,76	n.d.
F10 O4	50,36 \pm 2,77	44,97 \pm 2,30	4,93 \pm 0,93	4,73 \pm 0,91	n.d.
F10 M4	47,76 \pm 1,19	40,09 \pm 1,87	12,15 \pm 0,99	11,83 \pm 1,03	n.d.
F10 P4	40,17 \pm 1,44	52,11 \pm 1,47	7,54 \pm 0,52	7,37 \pm 0,52	n.d.
G10 O4	40,36 \pm 2,97	51,82 \pm 2,80	7,82 \pm 0,39	7,82 \pm 0,39	n.d.
G10 M4	42,03 \pm 1,94	41,04 \pm 1,97	16,81 \pm 0,97	16,81 \pm 0,97	n.d.
G10 P4	33,64 \pm 4,72	47,50 \pm 2,04	13,22 \pm 4,30	13,03 \pm 4,32	n.d.
S30 O4	41,46 \pm 1,16	51,23 \pm 1,39	7,24 \pm 1,04	6,98 \pm 1,02	n.d.
S30 M4	43,04 \pm 1,69	45,17 \pm 0,49	11,78 \pm 1,27	11,78 \pm 1,27	n.d.
S30 P4	35,77 \pm 1,29	56,23 \pm 1,48	7,98 \pm 0,50	7,98 \pm 0,50	n.d.
GF30 O4	51,80 \pm 2,66	42,96 \pm 2,41	5,20 \pm 1,23	5,20 \pm 1,23	n.d.
GF30 M4	52,64 \pm 3,44	38,77 \pm 2,62	7,56 \pm 1,59	7,41 \pm 1,54	n.d.
GF30 P4	41,55 \pm 1,43	55,49 \pm 1,20	2,95 \pm 0,41	2,95 \pm 0,41	n.d.
S10 O13	55,83 \pm 4,18	38,72 \pm 4,20	5,33 \pm 0,41	5,33 \pm 0,41	n.d.
S10 M13	43,37 \pm 2,20	38,15 \pm 1,55	18,47 \pm 2,22	18,38 \pm 2,26	n.d.
S10 P13	43,86 \pm 1,02	52,49 \pm 0,78	3,64 \pm 0,36	3,64 \pm 0,36	n.d.

TABLA 35. Composición porcentual en saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y totales $\omega 6$ y $\omega 3$ de los ésteres de colesterol plasmáticos.

DIETA	SATURADOS	MONO-INSATURADOS	POLI-INSATURADOS	Total $\omega 6$	Total $\omega 3$
S10 M4	40,40 \pm 3,25	26,42 \pm 2,56	33,19 \pm 4,72	33,10 \pm 4,67	0,09 \pm 0,09
S10 P4	29,22 \pm 3,60	36,53 \pm 3,13	34,23 \pm 4,56	33,16 \pm 4,31	n.d.
F10 M4	38,60 \pm 2,27	28,36 \pm 2,22	32,95 \pm 4,08	32,73 \pm 4,04	0,22 \pm 0,12
F10 P4	34,25 \pm 4,40	31,38 \pm 1,13	34,36 \pm 5,23	33,01 \pm 5,01	0,14 \pm 0,14
G10 O4	26,38 \pm 2,77	32,84 \pm 2,35	40,81 \pm 3,31	40,59 \pm 3,24	n.d.
G10 M4	26,21 \pm 3,01	25,78 \pm 2,75	48,34 \pm 5,22	47,85 \pm 5,12	0,49 \pm 0,13
G10 P4	27,23 \pm 3,76	32,87 \pm 1,43	39,64 \pm 4,64	39,64 \pm 4,64	n.d.
S30 O4	33,25 \pm 3,56	32,94 \pm 2,74	33,68 \pm 5,25	33,68 \pm 5,25	n.d.
S30 M4	34,33 \pm 3,50	30,06 \pm 0,95	35,62 \pm 4,09	35,41 \pm 3,99	0,20 \pm 0,11
S30 P4	18,45 \pm 3,14	32,06 \pm 1,96	49,49 \pm 4,41	48,32 \pm 4,22	0,27 \pm 0,19
GF30 O4	50,09 \pm 3,10	27,48 \pm 2,99	22,32 \pm 2,85	21,86 \pm 2,62	0,24 \pm 0,24
GF30 M4	42,37 \pm 1,51	30,85 \pm 1,40	26,78 \pm 2,66	26,78 \pm 2,66	n.d.
GF30 P4	33,08 \pm 2,78	38,79 \pm 1,82	28,13 \pm 2,57	28,03 \pm 2,56	n.d.
S10 O13	40,65 \pm 3,91	32,07 \pm 2,62	27,27 \pm 2,76	27,20 \pm 2,75	0,08 \pm 0,08
S10 M13	34,07 \pm 3,81	23,95 \pm 2,39	41,87 \pm 6,19	41,77 \pm 6,13	0,11 \pm 0,11
S10 P13	29,61 \pm 1,27	32,70 \pm 1,72	37,67 \pm 2,42	36,36 \pm 1,99	1,23 \pm 0,62

TABLA 36. Valores de los distintos experimentos del índice indicativo de una deficiencia en ácidos grasos esenciales (C16:1 ω 7/C18:2 ω 6), calculado a partir de la composición en ácidos grasos de los lípidos totales plasmáticos y valores de la actividad de la Δ 9-desaturasa, medida de una forma indirecta mediante la relación (C16:1 ω 7/C16:0) calculada a partir de la composición en ácidos grasos de los lípidos totales y de los fosfolípidos plasmáticos. Los datos se expresan como la media \pm EEM.

DIETAS	C16:1 ω 7/C18:2 ω 6	C16:1 ω 7/C16:0	C16:1 ω 7/C16:0
	ÁCIDOS GRASOS TOTALES		FOSFOLÍPIDOS
S10 O4	0,50 \pm 0,06	0,18 \pm 0,015	0,007 \pm 0,004
S10 M4	0,31 \pm 0,02	0,15 \pm 0,009	0,018 \pm 0,004
S10 P4	0,66 \pm 0,06	0,24 \pm 0,009	0,075 \pm 0,007
F10 O4	0,52 \pm 0,05	0,19 \pm 0,010	0,004 \pm 0,004
F10 M4	0,28 \pm 0,02	0,16 \pm 0,013	0,027 \pm 0,007
F10 P4	0,64 \pm 0,05	0,21 \pm 0,013	0,068 \pm 0,004
G10 O4	0,56 \pm 0,04	0,18 \pm 0,015	0,030 \pm 0,004
G10 M4	0,28 \pm 0,03	0,15 \pm 0,009	0,037 \pm 0,005
G10 P4	0,66 \pm 0,05	0,24 \pm 0,011	0,075 \pm 0,010
S30 O4	0,52 \pm 0,05	0,18 \pm 0,013	0,021 \pm 0,006
S30 M4	0,29 \pm 0,03	0,16 \pm 0,010	0,041 \pm 0,004
S30 P4	0,58 \pm 0,04	0,22 \pm 0,013	0,058 \pm 0,006
GF30 O4	0,46 \pm 0,03	0,16 \pm 0,015	0,009 \pm 0,005
GF30 M4	0,28 \pm 0,02	0,14 \pm 0,014	0,019 \pm 0,008
GF30 P4	0,78 \pm 0,06	0,20 \pm 0,007	0,048 \pm 0,009
S10 O13	0,20 \pm 0,03	0,07 \pm 0,010	0,006 \pm 0,004
S10 M13	0,09 \pm 0,01	0,07 \pm 0,007	0,003 \pm 0,003
S10 P13	0,50 \pm 0,03	0,15 \pm 0,005	0,011 \pm 0,004

TABLA 37. Valores del índice indicativo de una deficiencia en ácidos grasos esenciales (C16:1 ω 7/C18:2 ω 6), calculado a partir de la composición en ácidos grasos de los lípidos totales plasmáticos y valores de la actividad de la Δ 9-desaturasa, medida de una forma indirecta mediante la relación (C16:1 ω 7/C16:0), calculada a partir de la composición en ácidos grasos de los lípidos totales y de los fosfolípidos plasmáticos. En esta tabla se representan los valores de ambos índices de los lotes de animales que han consumido dietas con un mismo tipo de grasa al 4%. Los datos se expresan como la media \pm EEM.

Media grasas 4%	C16:1 ω 7/C18:2 ω 6	C16:1 ω 7/C16:0	C16:1 ω 7/C16:0
	ÁCIDOS GRASOS TOTALES		FOSFOLÍPIDOS
OLIVA	0,51 \pm 0,02	0,18 \pm 0,006	0,014 \pm 0,002
MARGARI	0,29 \pm 0,01	0,15 \pm 0,005	0,028 \pm 0,003
PALMISTE	0,66 \pm 0,02	0,22 \pm 0,005	0,065 \pm 0,003

Bloque experimental I**TABLA 37.1.** Análisis de varianza en los lípidos totales plasmáticos de (C16:1 ω 7/C18:2 ω 6).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	0.02872	0.00718	0.47	0.7611
GRASA (B)	2	3.53318	1.76659	115.34	0.0000
SEXO (C)	1	0.27307	0.27307	17.83	0.0000
A*B	8	0.21694	0.02712	1.77	0.0892
B*C	2	0.09528	0.04764	3.11	0.0471
A*C	4	0.14613	0.03653	2.39	0.0545
A*B*C	8	0.13770	0.01721	1.12	0.3523
RESIDUAL	117	1.79198	0.01532		

TABLA 37.1.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de (C16:1 ω 7/C18:2 ω 6) en los lípidos totales plasmáticos por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	0.6619	I
1	0.5118	.. I
2	0.2884 I

Nivel de significación p<0,05

TABLA 37.2. Análisis de varianza en los lípidos totales plasmáticos de (C16:1 ω 7/C16:0).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	0.01153	0.00288	2.15	0.0778
GRASA (B)	2	0.11902	0.05951	44.44	0.0000
SEXO (C)	1	0.00153	0.00153	1.14	0.2873
A*B	8	0.00771	9.636E-04	0.72	0.6753
B*C	2	4.582E-04	2.291E-04	0.17	0.8418
A*C	4	0.01047	0.00262	1.95	0.1049
A*B*C	8	0.02591	0.00324	2.42	0.0187
RESIDUAL	117	0.15669	0.00134		

TABLA 37.2.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de (C16:1 ω 7/C16:0) en los lípidos totales plasmáticos por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	0.2194	I
1	0.1783	.. I
2	0.1509 I

Nivel de significación p<0,05



TABLA 37.3. Análisis de varianza en los fosfolípidos de (C16:1 ω 7/C16:0).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
AZUCAR (A)	4	0.00890	0.00222	6.91	0.0001
GRASA (B)	2	0.06709	0.03354	104.11	0.0001
SEXO (C)	1	0.00264	0.00264	8.19	0.0050
A*B	8	0.00644	8.054E-04	2.50	0.0153
B*C	2	5.592E-04	2.796E-04	0.87	0.4254
A*C	4	0.00378	9.446E-04	2.93	0.0236
A*B*C	8	0.00287	3.593E-04	1.12	0.3581
RESIDUAL	117	0.03770	3.222E-04		

TABLA 37.3.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de (C16:1 ω 7/C16:0) en los fosfolípidos plasmáticos por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	0.0645	I
2	0.0289	.. I
1	0.0141 I

Nivel de significación $p < 0,05$

Bloque experimental III

TABLA 37.4. Análisis de varianza en los lípidos totales plasmáticos de (C16:1 ω 7/C18:2 ω 6).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	2.28636	0.45727	44.28	0.0000
SEXO (B)	1	0.18417	0.18417	17.83	0.0001
A*B	5	0.18673	0.03735	3.62	0.0074
RESIDUAL	48	0.49567	0.01033		

TABLA 37.4.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de (C16:1 ω 7/C18:2 ω 6) en los lípidos totales plasmáticos por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	0.6622	I
6	0.5022	.. I
1	0.4971	.. I
2	0.3074 I
4	0.1971 I I
5	0.0942 I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 37.5. Análisis de varianza en los lípidos totales plasmáticos de (C16:1 ω 7/C16:0).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	0.20723	0.04145	44.05	0.0001
SEXO (B)	1	2.027E-04	2.027E-04	0.22	0.6446
A*B	5	0.00607	0.00121	1.29	0.2840
RESIDUAL	48	0.04516	9.408E-04		

TABLA 37.5.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de (C16:1 ω 7/C16:0) en los lípidos totales plasmáticos por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	0.2363	I
1	0.1848	.. I
2	0.1536	.. I
6	0.1502	.. I
5	0.0745 I
4	0.0692 I

Nivel de significación $p < 0,05$

TABLA 37.6. Análisis de varianza en los fosfolípidos de (C16:1 ω 7/C16:0).

F. VARIACION	g.l.	S.C.	C.M.	F	p<
GRASA (A)	5	0.03735	0.00747	58.18	0.0001
SEXO (B)	1	0.00351	0.00351	27.34	0.0001
A*B	5	8.272E-04	1.654E-04	1.29	0.2846
RESIDUAL	48	0.00616	1.284E-04		

TABLA 37.6.1. Test de Tukey de comparación de pares de medias de (C16:1 ω 7/C16:0) en los fosfolípidos plasmáticos por grasa.

GRASA	MEDIA	GRUPOS HOMOGENEOS
3	0.0747	I
2	0.0184	.. I
6	0.0114	.. I I
1	6.64E-03	.. I I
4	6.10E-03	.. I I
5	2.79E-03 I

Nivel de significación $p < 0,05$

ANÁLISIS HISTOLÓGICOS

El estudio microscópico óptico de secciones de hígado de animales alimentados con diferentes dietas, las que producen menores proporciones de grasa en el hígado, obtenidas tras inclusión en parafina y teñidas con azul de toluidina (Figs. 1a, 1b y 1c), tricrómico de Mallory (Fig. 1d) y hematoxilina-eosina (Fig. 1e), nos ha permitido observar que el hígado de estos animales presenta una estructura normal, apareciendo formado por lobulillos hepáticos clásicos, en la que nos aparece una vena central de la que irradian sinusoides entre láminas de hepatocitos. En las áreas portales se observan conductos biliares, arterias y venas rodeadas de tejido conjuntivo (Fig. 1f).

Las células del parénquima hepático presentan un aspecto normal, tienen una forma poligonal y poseen un solo núcleo esférico que ocupa una posición central. Las células endoteliales que revisten los sinusoides muestran la forma típica alargada y con núcleo central aplanado (Fig. 2a).

Aplicando la técnica de PAS no se observan resultados positivos o aparece una leve reacción. (Fig. 2b).

Las secciones de hígado de los animales alimentados con las dietas, que tras el análisis químico del órgano contenían las mayores cantidades de grasa, tras tinción con hematoxilina-eosina (Figs. 2c y 2d) y azul de toluidina (Fig. 2e), se presentan con una arquitectura normal y se observa que el citoplasma de los hepatocitos aparece fuertemente vacuolado, debido a la presencia de numerosas vacuolas de tamaño variable.

Después de ser teñidas con PAS, mostraron que el citoplasma de los hepatocitos se tiñe de rojo, lo cual pone de manifiesto la presencia de acúmulos de glucógeno (Figs. 2f y 2g).

Un gran número de estas vacuolas intracitoplasmáticas llegan a interesar el citoplasma completo del hepatocito, desplazando el resto de estructuras celulares y al núcleo a la periferia (Fig. 3c). En otras ocasiones las vacuolas se presentan como pequeñas vesículas dentro del citoplasma de las células (Fig. 2d).

Con la tinción de Mallory (Fig. 3a) no se detectan ni procesos de colagenización sinusoidal, ni fenómenos fibróticos interhepatocitarios, como septos fibrosos centro-portales o centro-centrales. Tampoco fue observada la aparición de leucocitos polimorfonucleares que indicaran la presencia de procesos inflamatorios. Además como puede observarse con las tinciones de hematoxilina-eosina y de PAS los hepatocitos que rodean las áreas portales son los que

aparecen especialmente vacuolados (Figs. 2c, 2f.). Siendo de destacar los grandes acúmulos de vacuolas de contenido claro que aparecen en secciones de hígado teñidas con Tricrómico de Mallory (Figs. 3a y 3b).

Mediante aplicación de la técnica Sudan III, previa fijación en formaldehído y cortes por congelación, observamos en los experimentos donde se alimentó a las ratas con las dietas que contenían aceite de oliva y los menores porcentajes en glúcidos, se puede observar que el grado de infiltración grasa es escaso y en ocasiones inexistente, debido que aparece un leve reacción positiva con la tinción de Sudán III o incluso, no se presenta (Fig. 4a).

Por otro lado, en los animales en los que las vacuolas que aparecían con un contenido claro con las anteriores tinciones, con esta tinción dan reacción positiva, indicando que su contenido es material de naturaleza lipídica. El grado de esta infiltración lipídica ha sido variable, desde moderado a severo (Figs. 4b y 4c). Como se puede observar el mayor acúmulo de vacuolas aparece alrededor de las zonas portales, es decir, en la periferia del lobulillo clásico. Es debido a la presencia de numerosas vacuolas lipídicas, las cuales son más abundantes cuando los animales fueron alimentados con la dieta que contenía las grasas hidrogenadas y los azúcares en las mayores proporciones.

La intensidad de tinción con la técnica de Sudan III varía dependiendo del ejemplar utilizado, de forma que el depósito grasa se presenta en diversos grados, pudiendo aparecer como pequeños acúmulos de vacuolas teñidas de rojo alrededor de los espacios portales, quedando el resto de parénquima hepático sin teñir (Figs. 4b, 4d y 4e), o bien como acúmulos de dichas vacuolas que se distribuyen difusamente, ocupando una parte importante de la masa del acino hepático, cuando la infiltración grasa se presenta de una forma severa (Figs. 4c, 4f y 4g).



LÁMINA I

Figura 1a.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene sacarosa al 10% y aceite de oliva al 4%. Azul de toluidina. X 100.

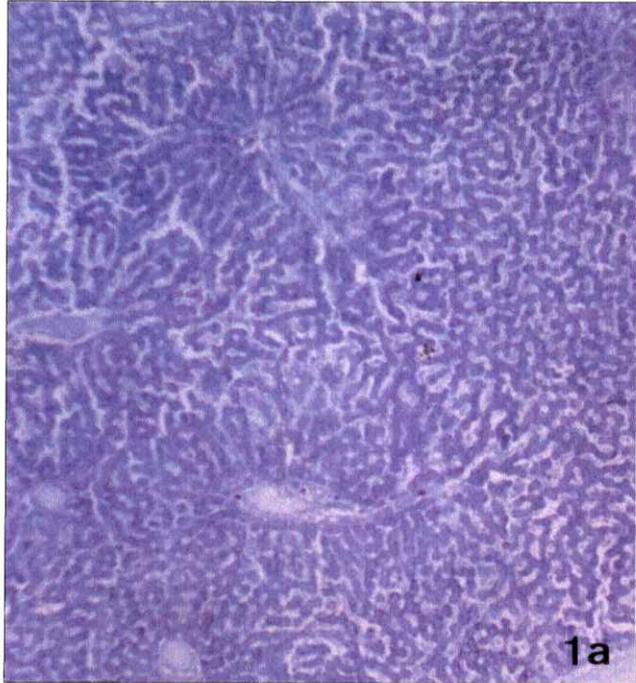
Figura 1b.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene sacarosa al 10% y aceite de oliva al 4%. Azul de toluidina. X 400.

Figura 1c.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene fructosa al 10% y aceite de oliva al 4%. Azul de toluidina. X 400.

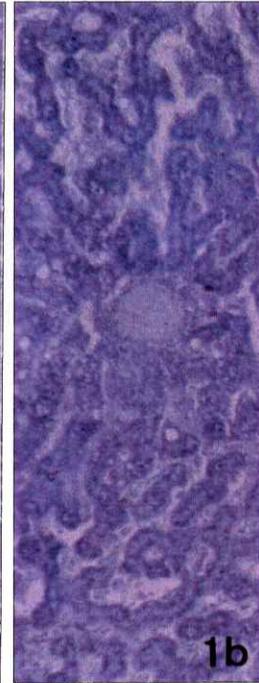
Figura 1d.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa al 10% y aceite de oliva al 4%. Tricrómico de Mallory. X 400.

Figura 1e.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa al 10% y aceite de oliva al 4%. Hematoxilina-eosina. X 100.

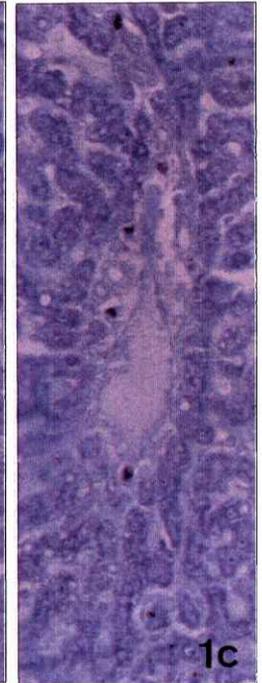
Figura 1f.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene sacarosa al 10% y aceite de oliva al 4%. Tricrómico de Mallory. X 1000.



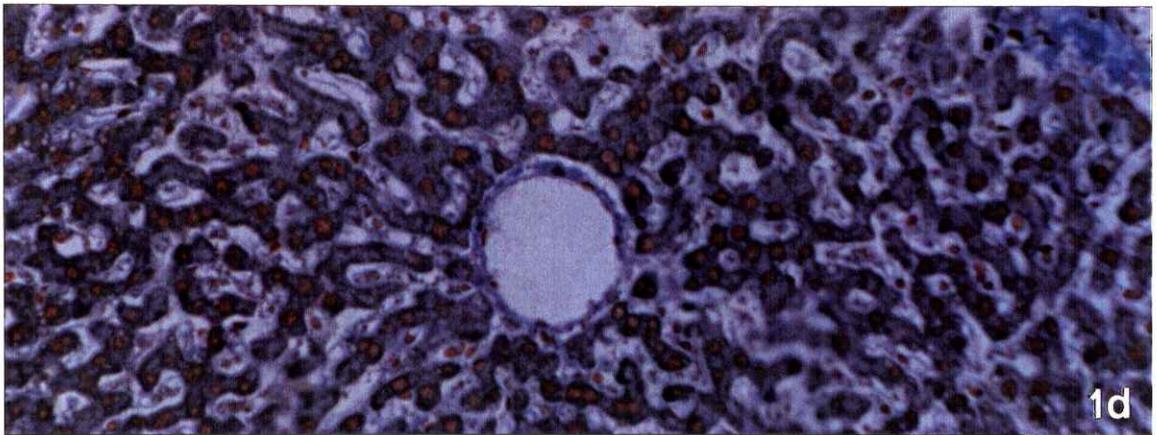
1a



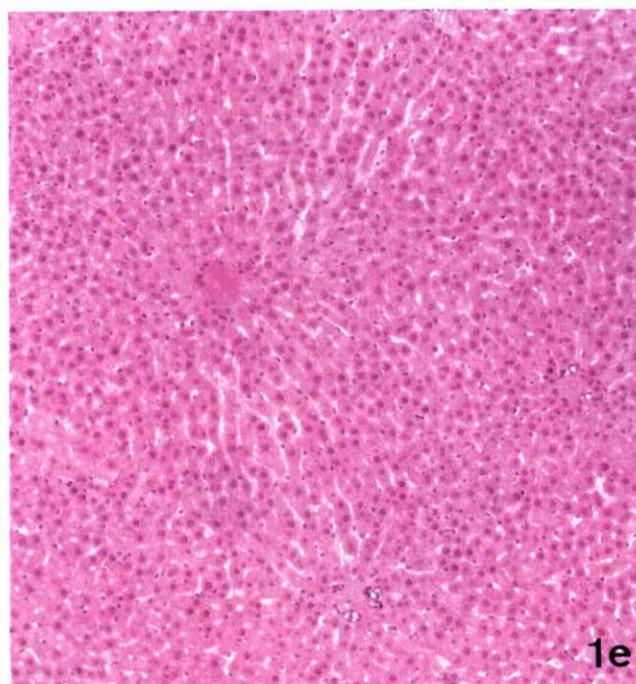
1b



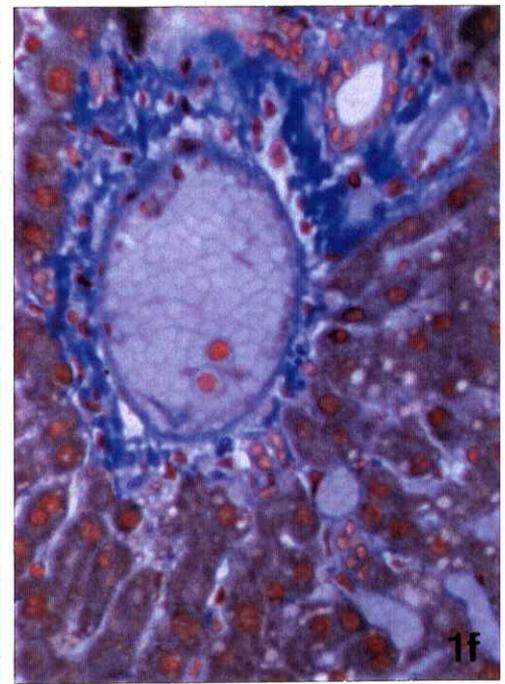
1c



1d



1e



1f

LÁMINA II

Figura 2a.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene sacarosa al 10% y aceite de oliva al 13%. Hematoxilina-eosina. X 400.

Figura 2b.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene sacarosa al 10% y aceite de oliva al 4%. PAS. X 100.

Figura 2c.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene sacarosa al 10% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%. Hematoxilina-eosina. X 100.

Figura 2d.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa al 10% y margarina al 4%. Hematoxilina-eosina. X 400.

Figura 2e.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa al 10% y margarina al 4%. Azul de toluidina. X 400.

Figura 2f.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene sacarosa al 30% y margarina al 4%. PAS. X 100.

Figura 2g.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa/fructosa 30% y margarina al 4%. PAS. X 400.

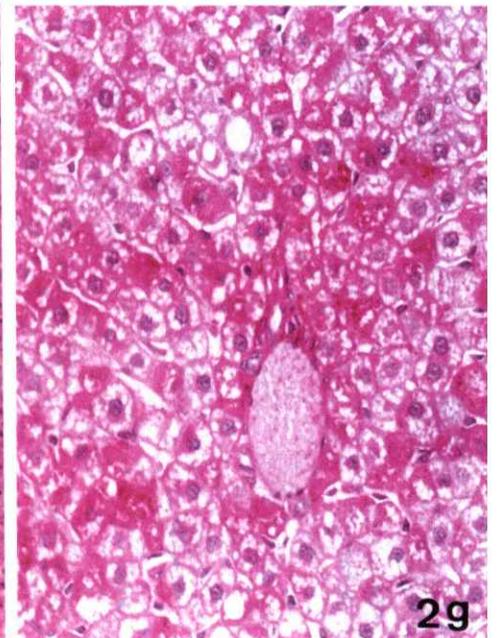
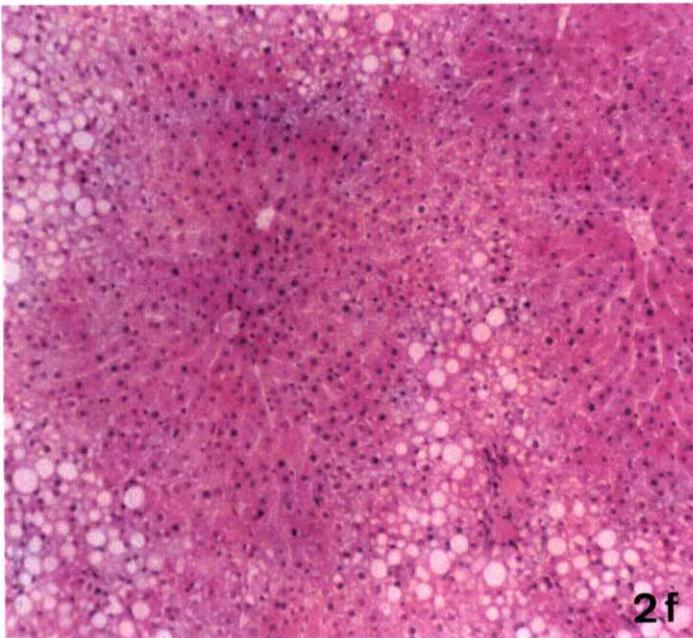
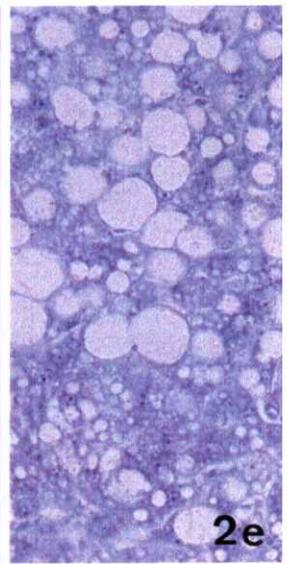
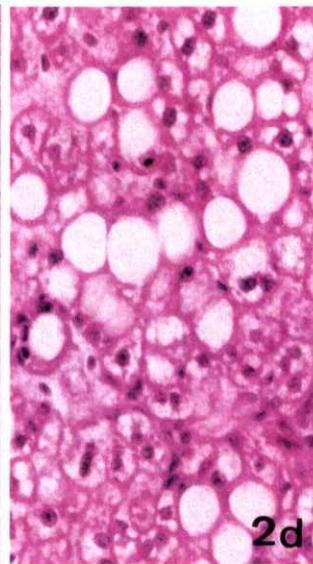
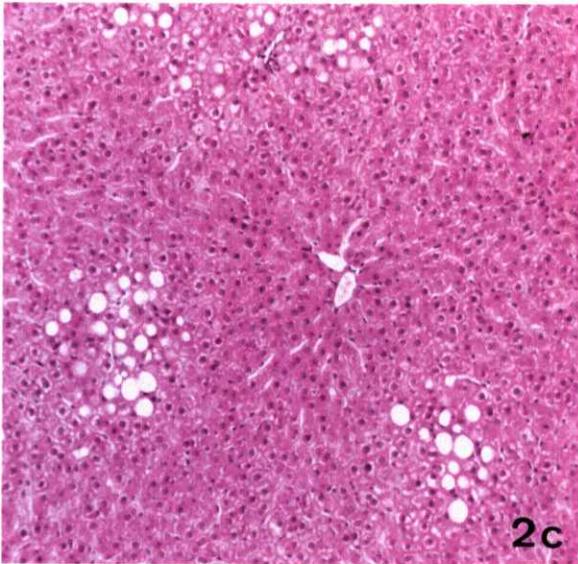
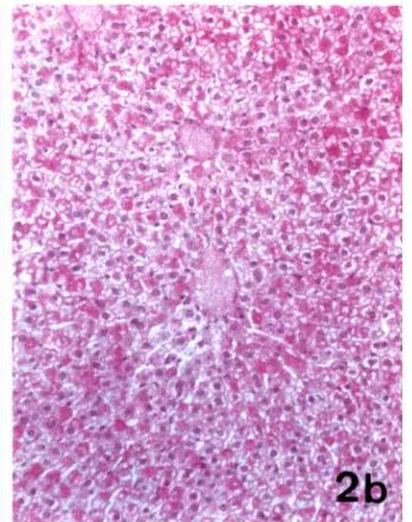
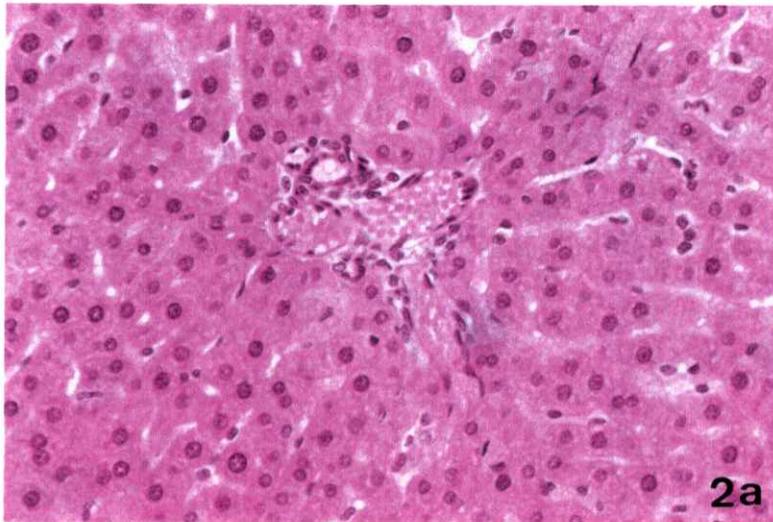


LÁMINA III

Figura 3a.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa/fructosa al 30% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%. Tricrómico de Mallory. X 100.

Figura 3b.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa/fructosa al 30% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%. Tricrómico de Mallory. X 400.

Figura 3c.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa/fructosa al 30% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%. Tricrómico de Mallory. X 1000.

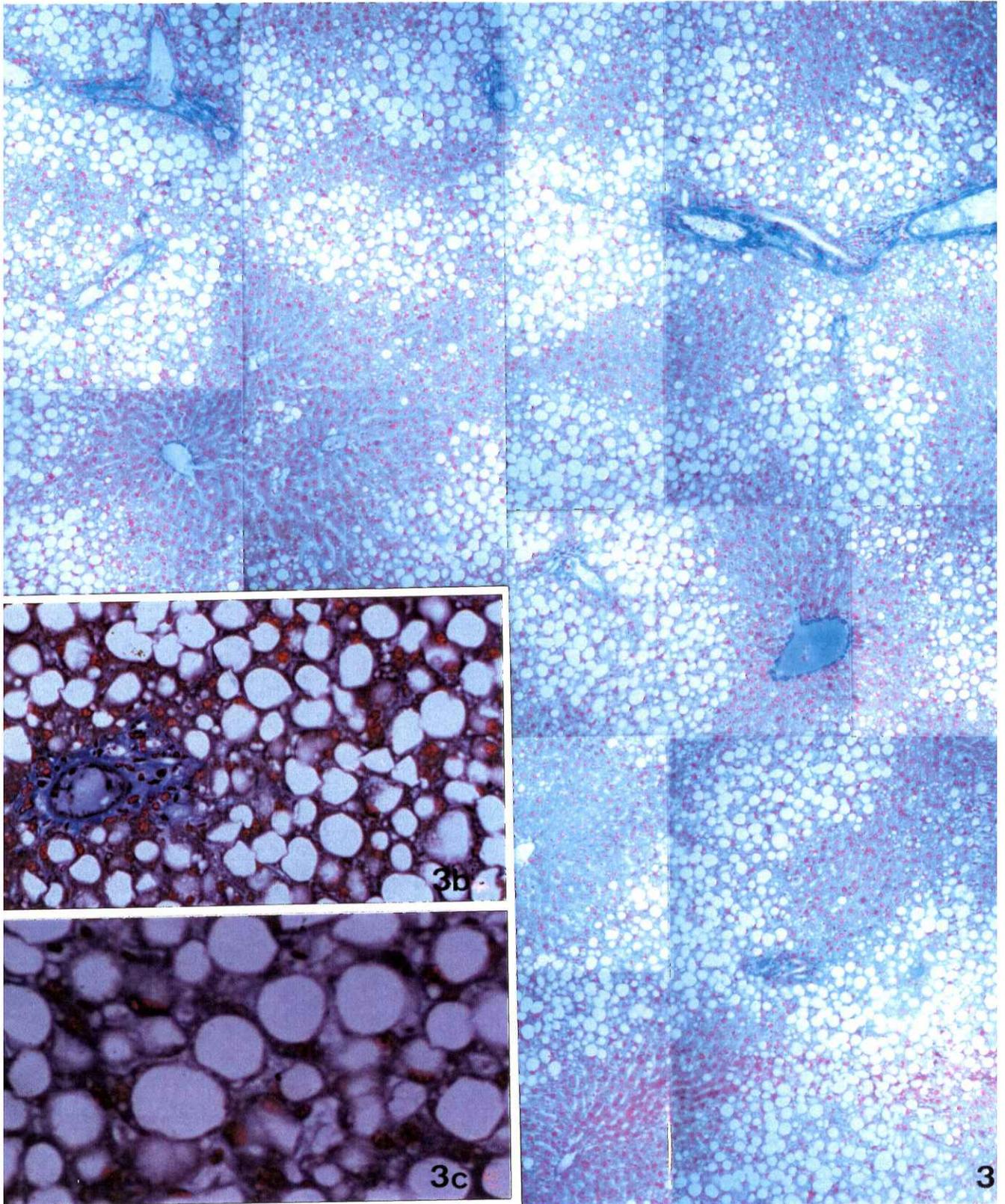


LÁMINA VI

Figura 4a.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene sacarosa al 10% y aceite de oliva al 4%. Se observa leve reacción positiva en la periferia del lobulillo clásico. Sudan III. X 100.

Figura 4b.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene sacarosa al 10% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%. Sudan III. X 25.

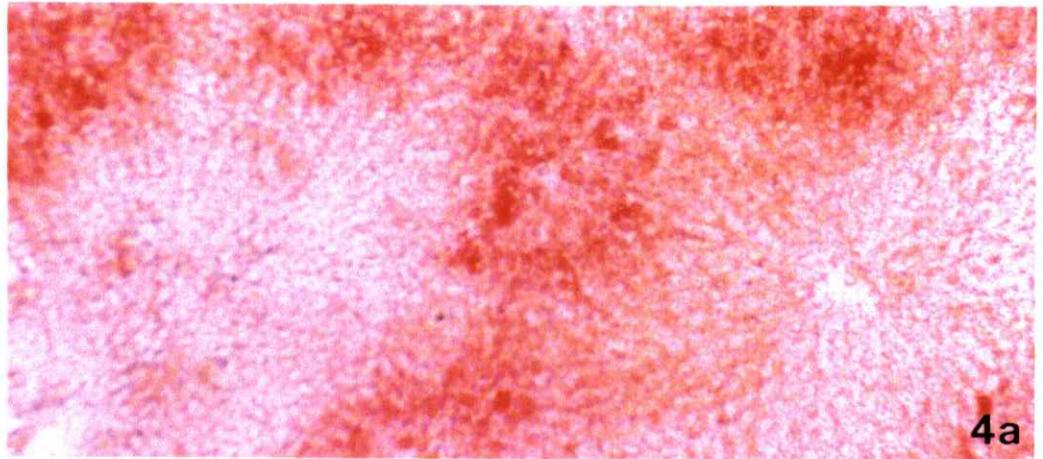
Figura 4c.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa/fructosa al 30% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%. Sudan III. X 25.

Figura 4d.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene sacarosa al 30% y margarina al 4%. Sudan III. X 100.

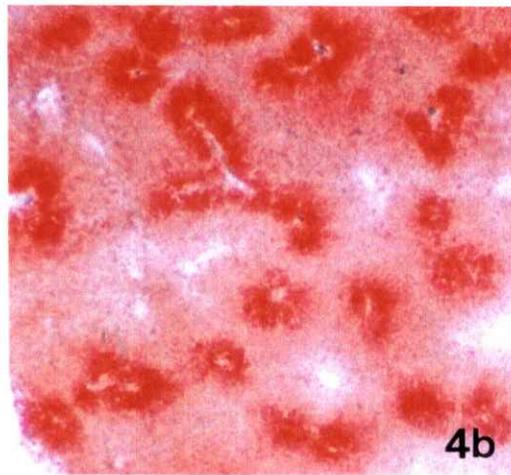
Figura 4e.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa/fructosa al 30% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%. Sudan III. X 100.

Figura 4f.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa/fructosa al 30% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%. Sudan III. X 100.

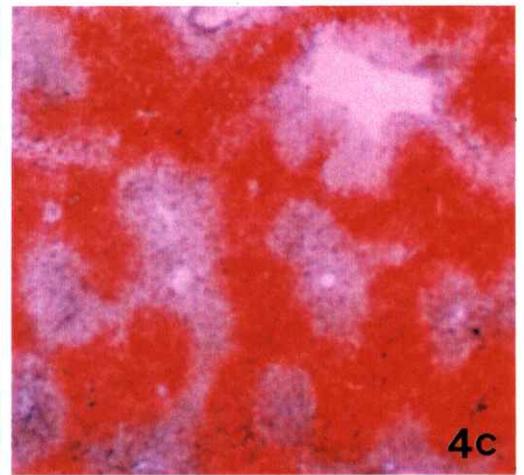
Figura 4g.- Hígado de rata alimentada con una dieta que contiene glucosa/fructosa al 30% y aceite de palmiste hidrogenado al 4%. Sudan III. X 100.



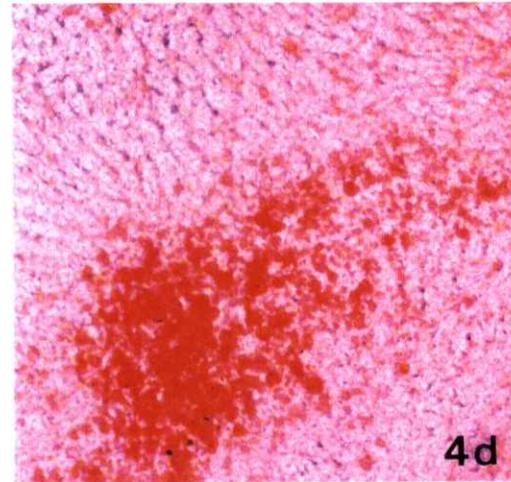
4a



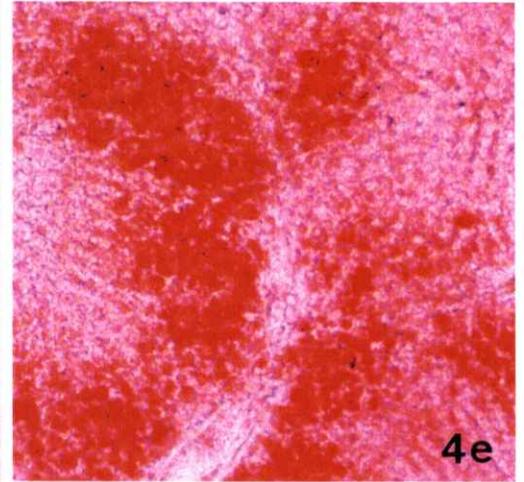
4b



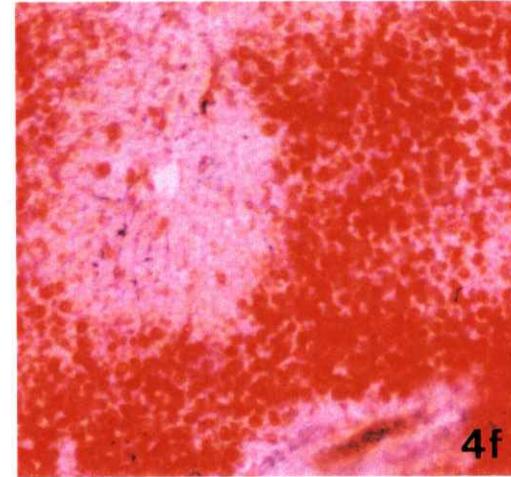
4c



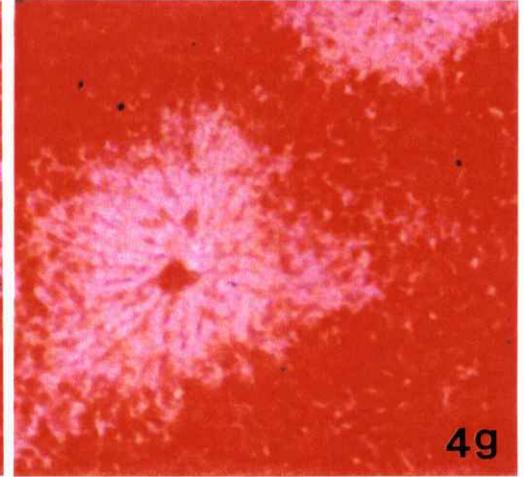
4d



4e



4f



4g



5.- DISCUSIÓN

5.1-SOBRE LA INGESTA E INCREMENTO DE PESO

Las dietas utilizadas, tal y como han sido descritas en el apartado de Materiales y Métodos (Tablas 2 y 3), se pueden agrupar de múltiples maneras, pero para entendernos de la forma más fácilmente posible, las agrupamos en dos conjuntos. Las quince primeras que son entre sí isocalóricas, que contienen la grasa a un nivel del 4% y lo que se ha variado es el tipo de glúcido y su proporción en seis de ellas y en el caso de la grasa no se varía su proporción pero sí el tipo. El otro grupo formado por tres tipos de dietas tienen siempre el mismo tipo de glúcido, en la misma proporción y lo que variamos es el nivel y el tipo de grasa utilizada.

Las ingestas en los diferentes experimentos sufrieron cambios de poca entidad (Tablas 10, 12 y 13). Los animales se comportan de una forma adecuada frente al alimento y la ingesta fue buena, incluso se podría decir que alta, lo que habla de una adecuada aceptación y adaptación de los animales a los diferentes tipos de dietas ensayadas. Lo que nos indica que cualquier cambio que pudiéramos percibir no estaba motivado por el sistema, instalaciones, jaulas, condición social etc. ya que estos factores influyen en la ingesta de alimento y ganancia de peso (SCALERA, 1992), sino que sería consecuencia de problemas más profundos y relacionados con la respuesta del animal frente a esa dieta en concreto como propone RAMIREZ, (1987), la sacarosa suministrada junto a la dieta, en ciertas ocasiones puede producir aumentos de la oxidación de combustibles metabólicos, por una menor deposición de grasa en el tejido adiposo, reduciendo la lipogénesis en el mismo y de esta forma disminuir la ingesta de alimento, ya que existen evidencias de que la ingesta de alimento en la rata estaría relacionada con la oxidación y el almacenamiento de combustibles metabólicos; un aumento de la oxidación inhibiría la ingesta (BOOTH, 1992; FORBES, 1992, RAMIREZ, 1990).

Aunque si se altera la composición de la dieta generalmente, se altera la palatabilidad del alimento y la ingesta energética (DESHAIES *et al.*, 1984), las dietas utilizadas en nuestros experimentos son las correctas para poder establecer sin ambigüedad el efecto de los diferentes glúcidos, ya que, los animales que son alimentados con el primer conjunto de dietas, lo son con dietas que solo se diferencian entre sí en la proporción relativa de los distintos carbohidratos ensayados y almidón; y este sería el modelo ideal según RAMIREZ (1987), para

poder comparar el efecto de los glúcidos.

Así, el grupo de dietas en las que la sacarosa se encontraba al 30% fue el peor aceptado por los animales y su ingesta fue significativamente menor ($p < 0,05$) que cualquier otra (Tablas 10.5, 10.51, 12.1 y 12.1.1). Esta menor ingesta no puede interpretarse como una consecuencia de modificaciones en la densidad calórica ya que este grupo de dietas eran isocalóricas con las que consumieron otros lotes y por ello la ingesta energética por 100 g de peso medio de los animales fue la menor ($p < 0,05$) (Tablas 10.6 y 10.6.1), lo que nos dice que los animales no dejaron de comer porque tenían cubiertas sus necesidades energéticas, sino por otras causas, relacionadas posiblemente con la repercusión que los altos niveles de sacarosa en la dieta (30%) tienen sobre algunas facetas del metabolismo, lo que ha hecho desaconsejar a algunos organismos oficiales de la Unión Europea en asociación con la ESPGAN, mediante la Directiva 89/398/EEC, que han de cumplir todos los países miembros, y posteriores modificaciones a la misma actualmente en proyecto y en España específicamente con el Real Decreto 1408/1992, el utilizar tasas mayores del 20% de sacarosa en la alimentación, especialmente de niños de corta edad. Para el caso concreto de la rata, en el último comité de formulación de dietas para roedores, perteneciente al Instituto Americano de Nutrición de dietas para roedores, las recomendaciones en la cantidad de sacarosa son de 100g/kg y además se incluyen almidones dextrinizados ricos en tetrasacáridos y glucosa, hasta un máximo del 13%-15%, dejando el resto del componente glucídico como almidón de maíz (REEVES *et al.*, 1993).

Quizás valga la pena llamar la atención una vez más sobre este aspecto negativo de los altos niveles de sacarosa en las dietas para ratas, dado que las dietas una vez preparadas en general se ajustan porcentualmente con almidón y sacarosa en partes iguales y ello puede hacerse así siempre que la sacarosa no sobrepase valores del 20%.

Como consecuencia de esta situación el incremento de peso en lo animales fue muy semejante (Tabla 10), como ocurre siempre que las ingestas son parecidas y no hay notables diferencias en los componentes de la dieta y sobre todo en la calidad nutritiva.

Dado que en un grupo de dietas, las que contenían mayores proporciones de sacarosa, las ingestas tanto energéticas como en valores absolutos y expresadas por 100 g de peso medio de los animales fueron significativamente menores que

en los restantes, debería producirse en estos animales un incremento de peso de menor entidad, que el observado en los restantes experimentos, como así ha sido ($p < 0,05$) (Tablas 10.1, 10.1.1, 10.7 y 10.7.1) incluso, manifestándose estas diferencias con mayor magnitud (Tabla 15) cuando la ganancia de peso es expresada por 100 g de peso inicial, para eliminar las interferencias que pudiera provocar la edad de los animales; o por 100 g de peso medio, para evitar la influencia del peso de los animales ($p < 0,05$) (Tablas 15.1, 15.1.1, 15.2, 15.2.1, 15.3, 15.3.1, 15.4 y 15.4.1). Este menor incremento de peso por el momento hay que atribuirlo a esta menor ingesta.

Sin embargo, otros autores han observado un incremento en la ingesta cuando los animales fueron alimentados con una dieta rica en sacarosa (OSCAI *et al.*, 1987), pero en este caso se estudio frente a una dieta que era rica en almidón, pero contenía una proporción mayor de grasa, o como sucede en otros trabajos (MARSHALL *et al.*, 1969; WILLIAMS y SZEPESEI, 1983) donde las dietas no se diferenciaron solamente en el nivel y tipo de glúcido, sino que además, tenían un distinto contenido en proteína, con lo que la relación energía:proteína se distorsiona y, por tanto, la comparación ya no es posible. Debido a que nivel de proteína de la dieta (KANAREK *et al.*, 1987), la disponibilidad y composición de los macronutrientes de la misma (SCLAFANI, 1988) influyen sobre el consumo de sacarosa en la rata. En nuestros experimentos, para obviar esta clase de interferencias, todas las dietas tenían el mismo tipo y cantidad de proteína.

Se podría argüir que las menores ingestas de alimento se produjeron en los animales que consumieron las dietas con mayores niveles de grasa, el 13% de la ración (Tablas 10, 12 y 13) y aún cuando esto es verdad si se valoran las cifras de ingesta en gramos, cuando observamos las ingestas calóricas vemos que estas son muy semejantes a las de los restantes experimentos, ya que los animales en general comen hasta satisfacer los requerimientos energéticos. Por lo general, las modificaciones en la densidad energética de la dieta no afectan a la ingesta calórica (VERGROESEN, 1989), debido a que las ratas normalmente compensan dichas variaciones con ajustes de la ingesta de alimento (RAMIREZ y FRIEDMAN, 1990; RAMIREZ, 1990), esto generalmente, se cumple en la rata para rangos de grasa en la dieta desde el 0% al 30% (NRC, 1978). Si una dieta es hipercalórica de esta tomaran menos, pero no se deben producir modificaciones de otros índices, como efectivamente así ha ocurrido, y el incremento de peso es

semejante al de los restantes experimentos. Nuestros resultados coinciden con los de otros autores, donde se produce un descenso de la ingesta de alimento sin modificaciones en el consumo energético, ni en el crecimiento de ratas alimentadas con dietas ricas en grasas frente a otras ricas en sacarosa (DESHAIES *et al.*, 1984; DESHAIES, 1986; OSCAI *et al.*, 1987) o a un pienso comercial (OSCAI *et al.*, 1984; RUSTAN *et al.*, 1992); o en ratas cuando se aumenta la proporción de diferentes tipos de grasa de la dieta (MORRISSEY *et al.*, 1986; CHO *et al.*, 1986; BEYNEN, 1987; ZSINKA *et al.*, 1987a; APGAR *et al.*, 1987; VAN AMELSVOORT *et al.*, 1988; STEEL *et al.*, 1990).

Sin embargo, en ciertas ocasiones se ha detectado un aumento en la ganancia de peso (HØSTMARK *et al.*, 1989) y una disminución del alimento ingerido (HERZBERG y ROGERSON, 1988a) variando radicalmente la relación grasa/carbohidrato de la dieta, cuando se comparan dietas ricas en grasa con dietas exentas de grasa o con cantidades marginales de la misma. Pero la propia carencia de grasa en la dieta puede provocar deficiencias nutricionales que afectan al crecimiento de los animales.

Otras veces los aumentos del consumo energético observados en ratas alimentadas con dietas ricas en grasa (MELA *et al.*, 1987) y del peso corporal (HARRIS y KOR, 1992; ERSKINE *et al.*, 1994) frente a otras alimentadas con un pienso comercial, con dietas ricas en sacarosa o ricas en sacarosa/almidón y menores niveles de grasa, han podido ser provocados por los altos niveles de grasa utilizados, mayores del 40% incluso del 60% de la energía de las dietas, que conducen a un aumento de la palatabilidad y de la densidad calórica de las mismas. Además, si la grasa y el carbohidrato están al mismo tiempo en altas cantidades en las raciones, existe un efecto aditivo de ambos componentes sobre la aparición de obesidad (LEVIN *et al.*, 1985; OSCAI *et al.*, 1984, 1987) y en este tipo de dietas parece ser que son las altas cantidades de la grasa, de los carbohidratos y de la energía, las que interactúan para producir los fenómenos hiperfágicos y la obesidad (RAMIREZ y FRIEDMAN, 1990; RAMIREZ, 1990).

En relación al tipo de grasa, nuestros resultados están de acuerdo con los hallados en la bibliografía por otros autores, donde utilizando fuentes lipídicas muy diversas sin variar la proporción de las mismas en las dietas, no se hallaron diferencias ni de la ingesta, ni del crecimiento (KURATA y PRIVETT, 1980b; HÜLSMANN y KORT, 1983; HAUG y HØSTMARK, 1987, 1989; HERZBERG y ROGERSON, 1988b; SUGANO *et al.*, 1988; VAN AMELSVOORT *et al.*,

1988a; GARG *et al.*, 1988; CHOI *et al.*, 1989; ZHANG *et al.*, 1989; AWAD *et al.*, 1990; YEO y HOLUB, 1990; MOHAN *et al.*, 1990; ŽACK *et al.*, 1990; KRITCHEVSKY *et al.*, 1990, 1991; PAN y BERDANIER, 1991a; HALMINSKI *et al.*, 1991; BALTZELL *et al.*, 1991; LEE *et al.*, 1991; LAI *et al.*, 1991; SHEPPARD y HERZBERG, 1992; BOUZIANE *et al.*, 1992; SCHRIJVER *et al.*, 1992).

Para tratar de analizar los cambios que se han ido produciendo durante el desarrollo de los experimentos, hemos medido y expresado los resultados de la ingesta dos veces por semana a lo largo de las tres semanas de duración del ensayo (Tabla 11), observándose algunas cuestiones cuyo interés trataremos de explicar. Mayoritariamente se produce una coincidencia llamativa, la ingesta de la primera mitad de cada semana es superior a la de la segunda mitad y aunque, no tenemos una clara explicación para ello, en este primer periodo de cada semana era cuando se pesaban los animales, se limpiaban y preparaban las instalaciones cámaras metabólicas, biberones, habitación etc. y quizás ello hacía ligeramente más confortable o atractivo el medio y repercutía sobre las ingestas, sin embargo no había componentes que perturbaran los experimentos ya que la media de la ingesta diaria total, o de la ingesta semanal (Tabla 12) o calculada por 100g de peso medio semanal (Tabla 13), fueron muy constantes a lo largo de los experimentos o dicho de otra manera el sistema experimental fue adecuado.

Cuando se comparan los resultados de la evolución semanal de la ganancia de peso a lo largo de los experimentos (Tabla 14), o esta misma expresada por 100 g de peso medio (Tabla 16) y se analizan las comparaciones entre los quince primeros experimentos, modelos de dietas **A**, **B**, **C**, **D** y **E** isocalóricas entre si, para ver la influencia del tipo de grasa; los modelos **D**, **E** y **F**, en los que se trata de estudiar la influencia del origen de la energía de las dietas y los resultados de la comparación de los modelos **A** y **F** que su objetivo es ver la repercusión del tipo y de la proporción de la fuente lipídica, se observa un hecho que no se pudo detectar cuando se analizaron los valores totales de ganancia de peso (Tabla 10), o cuando esta ganancia de peso total es expresada por 100 g de peso inicial; o por 100 g de peso medio (Tabla 15). Durante la última semana del desarrollo de los experimentos los animales que habían consumido dietas realizadas con aceite de palmiste hidrogenado como fuente lipídica por lo general, ganaban menos peso que en los restantes experimentos (Tabla 14), ($p < 0,05$) (Tablas 14.1, 14.1.2, 14.2, 14.2.1) incluso, algunos perdían peso ($p < 0,05$) (Tablas 14.3 y 14.3.1).

Estos resultados son confirmados cuando los valores del incremento de peso semanal son expresados por 100 g de peso medio semanal (Tabla 16), ($p < 0,05$) (Tablas 16.1, 16.1.2, 16.2, 16.2.1, 16.3 y 16.3.1). Este mismo hecho tampoco es fácil de detectar cuando se observan los valores globales del **IEA** y del **CEC** (Tablas 19 y 18), ahora bien, cuando se estudia la evolución semanal de ambos índices, resalta claramente que en la última semana de los ensayos la gran mayoría de los lotes de ratas alimentados con el aceite de palmiste hidrogenado presentan menores índices, e, incluso, algunos lotes poseen valores negativos de los mismos (Tablas 18 y 19 y figura 7). Por lo que se deduce que es el tipo de grasa el que influye de una manera negativa sobre la evolución del peso, dando las menores tasas de crecimiento los animales alimentados con la grasa severamente hidrogenada, el aceite de palmiste, y que además, cuando se aumenta la proporción de esta grasa en la dieta los animales crecen aún menos.

Figura 7. Evolución semanal del I.E.A. y del C.E.C. de los distintos experimentos.

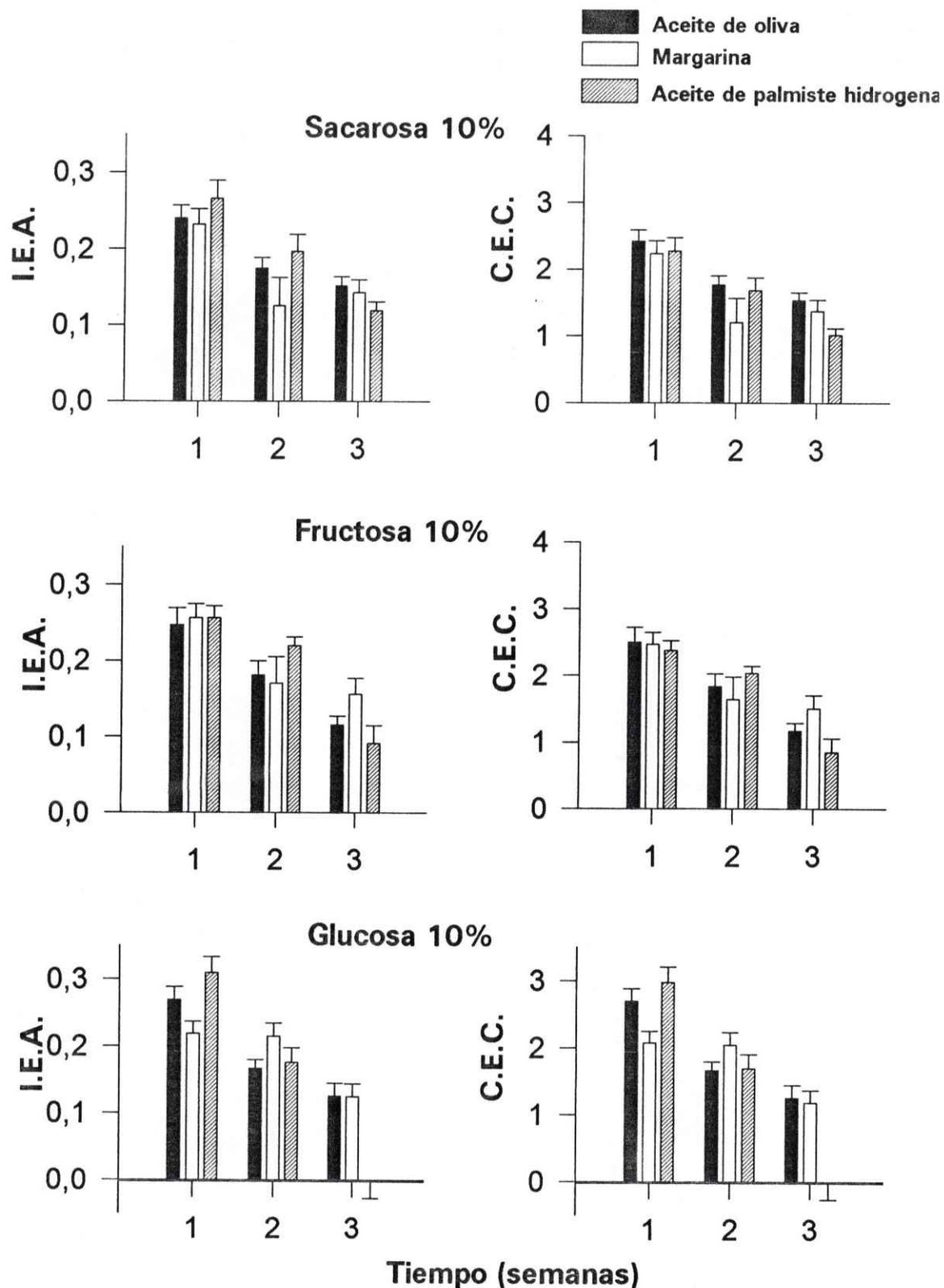
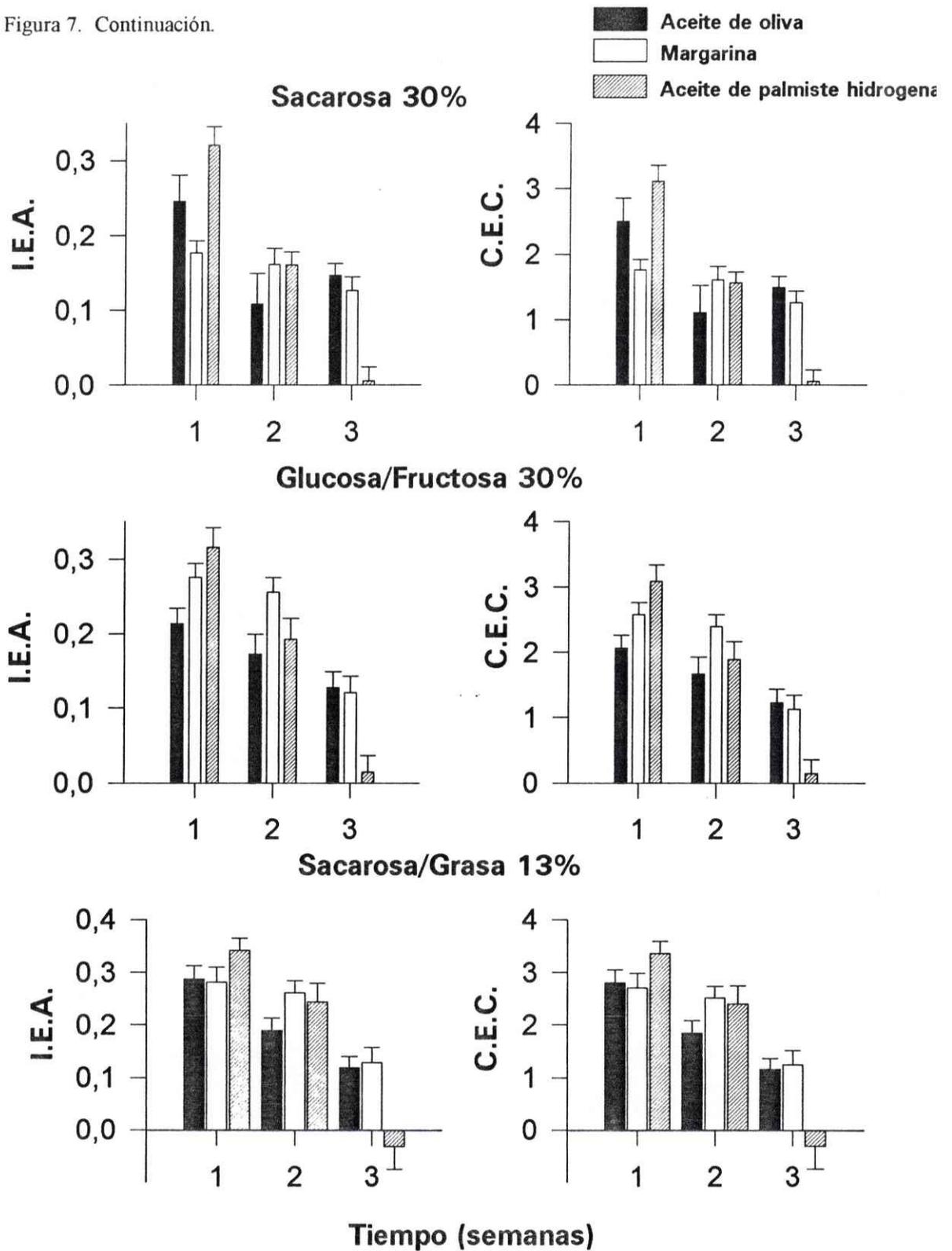


Figura 7. Continuación.



La utilización de grasas hidrogenadas en la alimentación ha repercutido negativamente sobre la tasa de crecimiento de ratas (SCHRIJVER y PRIVETT, 1983; GOTTENBOS, 1983; HUANG *et al.*, 1984; THOMASSEN *et al.*, 1984) o de ratones (BEYERS y EMKEN, 1991), como en nuestro caso. Debido probablemente a una deficiencia en ácidos grasos esenciales puesto que, como ya ha sido observado en ratas alimentadas crónicamente con grasas severamente hidrogenadas, se produce una supresión de la tasa de crecimiento, además de la aparición de otros síntomas de una deficiencia en ácidos grasos esenciales (HOLMAN *et al.*, 1983; EMKEN, 1984; SANDERS, 1988; OPSTVEDT *et al.*, 1988; BOURRE *et al.*, 1989; HANIS *et al.*, 1989; VERGROESEN, 1989; KELLY, 1990; SARDESAI, 1992; WAINWRIGHT, 1992; CHAPKIN, 1992).

En nuestros ensayos las ingestas de ácidos grasos esenciales, en los animales alimentados con el aceite de palmiste hidrogenado (Tabla 17), estuvieron siempre por debajo de cualquiera de los valores hallados en la bibliografía para poder cubrir sus requerimientos (NRC, 1978; LEAT, 1983; SANDERS, 1988; VERGROESEN, 1989; SARDESAI, 1992; WAINWRIGHT, 1992; CHAPKIN, 1992; GUESNET *et al.*, 1993; BOURRE *et al.*, 1990, 1993), y además esta dieta no aportaba el 2% de la energía total consumida como ácido linoleico, para eludir los efectos no deseables de posibles altos consumos de ácidos grasos *trans* (ZEVENBERGEN *et al.*, 1988; WELCH y BORLAKOGLU, 1992), al contener este tipo de grasa, cantidades marginales de los ácidos linoleico y α -linolénico (Tabla 7). Probablemente fue a partir de esta última semana cuando empezaran a aflorar los síntomas de una deficiencia en ácidos grasos esenciales.

En ciertas ocasiones, el uso de aceites y grasas hidrogenadas, en la alimentación de ratas, no ha producido variaciones en el crecimiento de los animales (LEVY *et al.*, 1990), pero en estos trabajos se ha visto que las fuentes lipídicas utilizadas contenían las cantidades necesarias para satisfacer los requerimientos en ácidos grasos esenciales (SUGANO *et al.*, 1983; EMKEN, 1984; EDWARDS-WEBB *et al.*, 1988; HANIS *et al.*, 1989) o las dietas estaban suplementadas con ácido linoleico (RØNNEBERG *et al.*, 1987).

En parte, el hecho de que las ratas que fueron alimentadas con la dieta que contenía un 13% de aceite de palmiste hidrogenado crecieran menos, incluso perdieran peso, pudo haberse debido a la menor ingesta diaria de alimento (Tabla 12), ($p < 0,05$) (Tablas 12.4, 12.4.1, 12.6 y 12.6.1) o expresada por 100 gramos de peso medio semanal (Tabla 13), ($p < 0,05$) (Tablas 13.2, 13.2.1, 13.3, y

13.3.1) detectada durante esta última semana. Resultados que coinciden con los hallados por otros investigadores, que utilizando distintos niveles de grasa hidrogenada de maíz, de pescado, de soja y de colza, hallaron diferencias en la ingesta en los animales que habían consumido las dietas en las que se habían utilizado las mayores proporciones de grasa, donde detectaron una disminución de la ingesta de alimento y de la ingesta calórica (THOMASSEN *et al.*, 1982; WATANABE *et al.*, 1984; NILSSON *et al.*, 1984).

Los crecimientos de los animales cuando se relacionan con la ingesta (IEA), son muy semejantes (Tabla 19), lo cual parece lógico ya que los animales comieron libremente de unas dietas que eran isocalóricas y que solo se diferenciaban en el tipo de grasa o en el tipo de azúcar, pero no en su proporción en la dieta. Por lo que podemos concluir que el índice de eficacia alimentaria no se ve influido por estas modificaciones de la dieta.

Cuando respecto del caso anterior se aumenta el nivel de glúcido simple al 30%, sin modificar el nivel calórico de la dieta y disminuyendo solamente el nivel de almidón, nos encontramos con algunos cambios interesantes. En primer lugar aparece el menor incremento de peso respecto del alimento ingerido (IEA), cuando el nivel de sacarosa se incrementó, lo cual nos habla de una alteración o disminución, a nivel digestivo o metabólico de la utilización nutritiva de esta dieta, que es atribuible a la sacarosa, ya que cuando este incremento se realiza no con el disacárido, sino por adición de glucosa y fructosa, no solo no sucede esto sino que en algún caso se obtiene un crecimiento máximo. El efecto del disacárido ha sido descrito como un fenómeno frágil y no aparece en muchas ocasiones (SCLAFANI, 1988). Todo esto nos permitiría ir más lejos y pensar que deben existir fenómenos postingestivos como la existencia de receptores de sacarosa en la luz intestinal que deben desencadenar esta respuesta, no solo a nivel metabólico sino de apetito, ya que son éstos los animales que tuvieron los menores niveles de ingesta. Algunos trabajos han hecho alusión a que factores postingestivos, como la tasa de absorción, osmolaridad y vaciado gástrico, influyen en el apetito y la ingesta de glúcidos en la rata (SCLAFANI, 1988, 1991; SCLAFANI *et al.*, 1988; 1993).

Por último cuando se eleva el nivel de grasa de las dietas, del cuatro al trece por ciento, nos encontramos con los mayores índices de conversión del alimento (IEA). Lo cual como era de esperar, pone de manifiesto que al aumentar el nivel de los lípidos a expensas de los glúcidos, sin modificar la proporción de

azúcares simples, en este caso la sacarosa, se incrementa el peso, aún cuando no se modifica la ingesta calórica ya que la deposición grasa (lipogénesis) está favorecida, fundamentalmente vía insulina.

Si utilizando el mismo diseño anterior y en el mismo orden estudiamos el incremento de peso en base a la proteína ingerida (**CEC**) (Tabla 18), observamos en primer lugar que el tipo de grasa produce interesantes modificaciones, que a medida que esta es más saturada la utilización de la proteína es menor para promover crecimiento y la mejor utilización se obtiene con el aceite de oliva. La razón de estos cambios podría entenderse a la luz de que las grasas más hidrogenadas son deficientes en ácidos grasos esenciales y ello repercutirá claramente sobre el crecimiento, si lo ensayos hubieran sido de mayor duración aún se habría puesto más de manifiesto.

Cuando la proporción de glúcido se eleva al 30% se observan modificaciones en el **CEC**, que en nuestra opinión son consecuencia de las modificaciones que la dieta ha ocasionado sobre la ingesta y la utilización de la misma como ya hemos descrito. Las modificaciones en la ingesta también alcanzan a la ingesta proteica (Tabla 10), ya que los animales a los que se les suministró la dieta con sacarosa al 30%, consumieron menor cantidad de proteína y se observa que es estadísticamente significativa ($p < 0,05$) cuando esta se expresa por 100 g de peso medio (Tablas 10.3 y 10.3.1). En el último caso cuando estudiamos la influencia del nivel lipídico sobre el crecimiento, por las razones ya dichas, el animal se encuentra en franco anabolismo y si para una menor ingesta de alimento presentan un incremento de peso igual es obvio que tendrán un mayor **IEA** y **CEC**.

5.2- SOBRE LA COMPOSICIÓN DEL HÍGADO

El hígado está considerado como un centro metabólico esencial, por lo que las alteraciones producidas por los diferentes componentes de la dieta pueden manifestarse en su metabolismo, ocasionando cambios en su composición.

Si se observan los valores del peso de los hígado en los diferentes experimentos (Tabla 20), las variaciones halladas en el mismo son de poca entidad, por lo que parece que el peso de los hígados es consecuencia de la distinta edad y peso de los animales, y por ello, cuando se calcula la relación hepatosomática este valor es muy semejante para todos los lotes ensayados, sin cambios destacables y de poca magnitud, lo cual quiere decir, que en nuestras condiciones experimentales, las distintas dietas ensayadas por nosotros no son capaces de producir modificaciones lo suficientemente importantes en el crecimiento y desarrollo del hígado con respecto al resto del cuerpo, lo que coincide con los resultados de HERZBERG y ROGERSON, (1988).

Sin embargo, pueden observarse pequeñas variaciones en la relación hepatosomática cuando analizamos el primer bloque experimental, las quince dietas isocalóricas entre si. Los menores índices los presentan los animales que ingirieron las dietas con sacarosa al 30% y como hemos dicho esta dieta produjo en los animales modificaciones tanto de la ingesta, como de la eficacia digestiva y metabólica.

Los animales que fueron alimentados con dietas que contenían glucosa y fructosa, en cantidades equimoleculares al 30%, presentaron los mayores índices de relación hepatosomática ($p < 0,05$) (Tablas 20.1 y 20.1.1), mayor incluso que los alimentados con las mismas proporciones de sacarosa. Y ello puede estar relacionado con la facilidad con que este azúcar, la fructosa se transforma en triglicéridos en el hígado (BRUCKDORFER *et al.*, 1972; AOYAMA y ASHIDA, 1973; ROMSOS y LEVEILLE, 1974; AOYAMA *et al.*, 1974a; 1974b; 1975a; 1975b; 1980a; KATSURADA *et al.*, 1986; YAMAMOTO *et al.*, 1987; KELLEY *et al.*, 1987; CARMONA y FREELAND, 1989; JEN *et al.*, 1991; ELLWOOD *et al.*, 1991; BERGSTRA *et al.*, 1993).

La composición del hígado se mantiene muy semejante en los distintos experimentos, no obstante, dentro de la variabilidad existente en los resultados individuales, pueden apreciarse algunos cambios en la proporción de los distintos componentes del hígado en sustancia fresca (Tabla 21), que son poco relevantes

en valor absoluto y posiblemente menor aún en valor relativo.

Tras el análisis histológico (Figs. 1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f, 2a y 4a) y químico del órgano (Tabla 21), conviene resaltar algunas peculiaridades en lo que al % de grasa se refiere. La primera y más importante es que con independencia del resto de los ingredientes en cantidad y calidad, la presencia de aceite de oliva en la dieta provocó la menor proporción de grasa en el hígado ($p < 0,05$) (Tablas 21.1 y 21.1.2), lo cual podría estar relacionado con la mayor facilidad del hígado para biosintetizar partículas exportadoras de lípidos cuando el aceite de oliva es el mayoritario en la dieta y a la inversa sucede en el caso de las otras grasas, lo que evidentemente está relacionado con el mayor o menor grado de insaturación de las distintas fuentes grasas; o como sugieren algunos investigadores porque el ácido oleico contribuye en menor proporción a la lipogénesis hepática, debido a que es captado a menores tasas por el hígado y es mejor utilizado por los tejidos extrahepáticos, que otros ácidos grasos, como son el ácido esteárico o el palmítico. Este último es captado por el hígado e incorporado rápidamente a los triglicéridos hepáticos (WANG y KOO, 1993). Cuando se comparan los resultados de la composición química de este órgano en sustancia seca (Tabla 22), se siguen manteniendo estas diferencias entre las distintas dietas ($p < 0,05$) (Tablas 22.1 y 22.1.2).

La mayor proporción de grasa en el hígado parece alcanzarse con las dietas que contenían los azúcares en las mayores proporciones, sacarosa y glucosa/fructosa al 30%, aunque los resultados no fueron estadísticamente significativos. Esta mayor cantidad de grasa también se confirmó una vez realizados los estudios histológicos (Figs. 2f, 2g, 4c, 4d y 4e).

Cuando se analizan las comparaciones del segundo y tercer bloques experimentales, modelos de dietas **A** y **F** y modelos de dietas **D**, **E** y **F** respectivamente, para estudiar la influencia del tipo de grasa y la influencia del origen de la energía, se obtienen resultados semejantes. El tipo de dieta que causó un mayor contenido de lípidos en el hígado fue realizado con aceite de palmiste hidrogenado al 4% y los dos monosacáridos al 30% (**GF30 P4**).

La mayor proporción de grasa en los hígados de estos animales también pudo confirmarse después de los estudios histológicos (Figs. 3a, 3b, 3c, 4c, 4e, 4f y 4g).

Como se puede observar la grasa se encuentra en el hepatocito en forma macrovesicular, constituyendo una gran vacuola lipídica que desplaza al núcleo

celular y al resto de material citoplasmático hacia la periferia, lo que da a la célula un aspecto en anillo de sello (Fig. 3c) característico en las esteatosis macrovesiculares (CONDE-MARTEL *et al.*, 1993). De vez en cuando se observan vesículas de diferentes tamaños (Figs. 2d y 2e), que podrían ser según algunos autores, microvesículas que todavía no se han fusionado (ALIAGA y PRIETO, 1985). La ausencia de alteración de la arquitectura hepática (JARAMILLO, 1985) y de otros procesos degenerativos (ITOH *et al.*, 1987; DE LA MORENA y GONZALEZ 1989; SALMOSON *et al.*, 1993; MORENO, 1993) así como el resto de los signos histológicos coinciden con los descritos por distintos autores en los procesos infiltrativos grasos (LÓPEZ NOVOA *et al.*, 1976; ISSELBACHER y La MONT 1986; MORENO, 1993).

Nuestros resultados son semejantes a los obtenidos por otros autores, utilizando dietas carentes de grasa o grasas severamente hidrogenadas (NELSON *et al.*, 1987a), con muy bajos niveles de grasa 0,5% (IDE *et al.*, 1992) se incrementa la proporción de los lípidos hepáticos. En muchos casos los procesos de infiltración lipídica en el hígado están asociados a una deficiencia en ácidos grasos esenciales (CHAPKIN, 1992, VERGROESEN, 1989), debido a una inadecuada síntesis de fosfolípidos. Ya que parece que para una adecuada síntesis y secreción de lipoproteínas ricas en triglicéridos se requiere la existencia y/o la síntesis coordinada de cada uno de sus constituyentes; apoproteína B, fosfolípidos, triglicéridos, colesterol, ésteres de colesterol, además de otros factores celulares menos definidos (YAO y VANCE, 1988, 1989a, 1989b; VANCE, 1990; VANCE y VANCE, 1990b; KHAN *et al.*, 1990; YAO y McLEOD, 1994). Además parece que en ratas adultas los procesos de secreción de lipoproteínas ricas en triglicéridos poseen menores tasas y son menos inducibles por la fructosa, probablemente debido a un fallo en la estimulación de la síntesis de apoproteína B, lo que podría contribuir a la aparición de un hígado graso en estos animales (NASSIR *et al.*, 1993). Sumado a lo anterior, se ha visto que en ratas el aumento de la síntesis de triglicéridos por un alto contenido de carbohidratos en la dieta parece ser responsable, en parte, de la acumulación de triglicéridos en el hígado, producida por dietas deficientes en ácidos grasos esenciales (SANDERS, 1988). Debido probablemente a que el efecto inhibitor de la síntesis de ácidos grasos en el hígado producido por la grasa saturada es mucho menor que el de las insaturadas de cualquier tipo (NELSON *et al.*, 1987; HERZBERG y ROGERSON, 1988b; WILSON *et al.*, 1990; SHU *et al.*, 1990; MOHAN *et al.*,

1991; NELSON, 1992).

La proporción de proteínas del hígado como puede observarse (Tablas 21 y 22), varió ligeramente entre los diferentes experimentos y dentro de los rangos normales, lo cual coincide con las observaciones de KELLEY *et al.* (1987) y NELSON *et al.*, (1987a), SJÖBLOM y EKLUND (1990), quienes aplicando distintos tratamientos nutricionales no encontraron variaciones marcadas en el contenido de proteína hepática. También coinciden nuestros resultados con los estudios de ELLWOOD *et al.* (1991), donde se indicaba que los distintos carbohidratos de la dieta, sacarosa, fructosa o almidón, no afectaron a la concentración de la proteína del hígado.

Resultados similares a los nuestros se han obtenido variando el tipo (HALMINSKI *et al.*, 1991) o la cantidad (RUTEN y FALKE, 1987) de grasa de la dieta. No se detectaron variaciones marcadas en la cantidad de proteína del hígado.

No es de esperar que se puedan inducir con la dieta modificaciones en las proporciones de proteínas, ya que la síntesis de proteínas depende de un patrón genético y por tanto difícilmente inducible, salvo en los casos que se utilicen dietas muy desequilibradas y por lo tanto muy agresivas y durante largos periodos de tiempo. Y este no es el caso, ya que todas las dietas mantenían el mismo nivel proteico, de aproximadamente el 10%, y la proteína fue en todos los casos de excelente calidad (caseína + D,L-metionina). Por lo que los cambios detectados son en todo caso una consecuencia indirecta de los incrementos de los niveles de grasa en el hígado motivados por los cambios en la ingesta de glúcidos y lípidos. Al mismo tiempo se explica que la grasa al ser un material de reserva y no depende básicamente de un patrón genético para su acumulación (MANKU *et al.*, 1984; WAKU, 1992), sea más sensible y por tanto cambios en la composición de la dieta pueden más fácilmente producir o inducir modificaciones

Como era de esperar estos cambios en la proporción de grasa del hígado, estuvieron acompañados por modificaciones en las cantidades de agua y proteína del órgano. De esta manera, en las ratas que en sus hígados se acumuló una cantidad mayor de lípidos, la proporción de proteína y la hidratación del tejido disminuye. Encontrando una correlación negativa y estadísticamente significativa entre estos componentes del hígado (grasa y humedad ($r = -0,92$, $p < 0,05$)) y (grasa y proteína ($r = -0,56$, $p < 0,05$)), esta última correlación cuando se calcula con los valores expresados en sustancia seca, alcanza coeficientes mayores ($r = -$

0,89, $p < 0,05$).

Aunque, algunos autores no encuentran diferencias en el contenido proteico del hígado utilizando como modelos de esteatosis a ratas de la raza Wistar (KARSENTY *et al.*, 1985). En otros trabajos si se ha detectado una disminución del contenido proteico en modelos de esteatosis severa con ratas (NARCE *et al.*, 1988; BOGIN *et al.*, 1986).

Los minerales constituyen la menor proporción de entre los constituyentes del hígado, bajo esta denominación se encuentran todos los minerales, desde los que están en cantidades importantes, hasta los que solo se presentan a nivel de trazas. Con este espectro tan variopinto, es imposible creer que todos ellos se modifiquen con una misma tendencia, por lo que mientras unos puedan verse modificados en sentido positivo, otros lo harán en sentido contrario, por lo que lo normal será que su proporción total no cambie, o varíe mínimamente, tal como nos ocurre a nosotros (Tablas 21 y 22). Lo cual no resta importancia a que pudiera ser interesante el estudio de algún microelemento en concreto, para ver si su metabolismo pudiera verse afectado por cambios en la composición de la dieta que no afectan a la fracción mineral, como es nuestro caso.

5.3.- INFLUENCIA DE LA DIETA SOBRE ALGUNOS ENZIMAS PLASMÁTICOS.

La determinación de muchos enzimas séricos se utiliza como medida de la lesión hepatocelular. En la rata se emplean extensamente la actividad enzimática en el plasma de ambas transaminasas, para detectar posibles daños hepáticos (BOLANT *et al.*, 1990), así como de la fosfatasa alcalina (ZIMMERMAN, 1979; PODOLSKY y ISSELBACHER, 1986).

Al observar los valores de las distintas actividades enzimáticas medidas en plasma (Tabla 23 y figura 8), es visible el hecho de que los diferentes tratamientos nutricionales que hemos aplicado, modifican algunos de los valores de estas actividades enzimáticas.

En primer lugar nos encontramos que algunos de los valores de la actividad de la alanina aminotransferasa (ALAT) son extraordinariamente bajos cuando se comparan con los aportados por la gran mayoría de autores consultados en la bibliografía (CHARLES RIVER LAB., 1982; IFFA CREDO, 1984; BATTLES *et al.*, 1991), pero se encuentran dentro del rango de los aportados por otros autores (ZIMMERMAN *et al.*, 1965). Sin embargo, los datos de la aspartato aminotransferasa y de la fosfatasa alcalina son semejantes a los de los investigadores anteriormente citados.

El problema a la hora de establecer la validez y la fiabilidad de los valores descritos, viene remarcado por las siguientes consideraciones. La fuente, la cepa y subcepa de las ratas empleadas, estatus patológico, edad y sexo de las mismas, condiciones de mantenimiento, métodos de recogida de muestra, incluyendo el punto de extracción y hora del día, duración de los tratamientos, anticoagulante empleado, etc. Se sabe que todos estos aspectos son capaces de influir en los valores bioquímicos, por lo que es muy difícil aspirar a lograr un valor universal para algunos parámetros (BOLANT *et al.*, 1989). El problema es curiosamente suficientemente complejo, como para que nos veamos en la necesidad de hacer algunas reflexiones: En primer lugar sorprende la variedad de interpretación acerca del significado de estas enzimas en función de cambios fisiológicos concretos, y ello puede ser debido a que la mayor parte de los cambios se han observado tras la aplicación de tratamientos muy enérgicos y muy lesivos, como la administración de tetracloruro de carbono (ZIMMERMAN *et al.*, 1965), hiperalimentación enteral con carbohidratos (SHELDON *et al.*, 1978; TULIKUORA y HUIKURI, 1982; VAN DOORMAAL *et al.*, 1987), con lo que

nos podemos encontrar muy lejos de los cambios que pueden sucederse ante procesos de importancia fisiológica, pero de menor capacidad agresiva.

En segundo lugar, algunos de los datos que se manejan en la bibliografía se han obtenido en distintas estirpes de animales (ZIMMERMAN *et al.*, 1965; CHARLES RIVER LAB., 1982; BATTLES *et al.*, 1991) y entre ellas hay claras diferencias y, lo que es más importante, con frecuencia no se especifica la edad de los animales (AVIDAR *et al.*, 1986) y esta se sabe que influye sobre los valores que estamos dilucidando.

Y, en tercer lugar, y no por ello de menor importancia, los experimentos se han realizado utilizando dietas cuya composición no conocemos y, que en muchos casos no se ha considerado de interés el incluirlas en los trabajos revisados (CHARLES RIVER LAB., 1982; AVIDAR *et al.*, 1986), por lo que existe incluso la posibilidad de que se hayan obtenido con dietas desequilibradas.

Cuando observamos los resultados de la actividad enzimática de ambas transaminasas entre las quince primeras dietas, todas ellas con el 4% de grasa, nos encontramos que las diferentes dietas no produjeron modificaciones en la actividad de la aspartato aminotransferasa. Pero los animales a los se les suministraron dietas que contenían las mayores proporciones de azúcares, sacarosa y glucosa/fructosa al 30% (Fig. 8), poseen valores más elevados de la alanina aminotransferasa ($p < 0,05$) (Tablas 23.1 y 23.1.1) y simultáneamente, se puede ver que las dietas realizadas con el aceite de palmiste hidrogenado provocaron los incrementos máximos de la actividad de este enzima ($P < 0,05$) (Tablas 23.1 y 23.1.2).

Si tenemos en cuenta que este tipo de grasa, provoca los mayores acúmulos de lípidos en el hígado y por su carácter eminentemente saturado dificulta la síntesis hepática de VLDL, esta alteración funcional, condiciona una mayor salida del enzima citosólico de los hepatocitos. En el caso de los animales a los que se les suministraron las dietas con los azúcares al 30%, sobre todo los que ingirieron la dieta que contenía glucosa y fructosa, los incrementos en la actividad alanina aminotransferasa pueden tener una explicación parecida ya que son los animales que han acumulado mayor cantidad de grasa en el hígado y además los alimentados con esta dieta los hígados son de mayor tamaño.

Parece lógico llamar la atención aquí acerca de que los valores a los que nos hemos referido, están dentro de lo que se considera normal para este enzima y en esta especie.

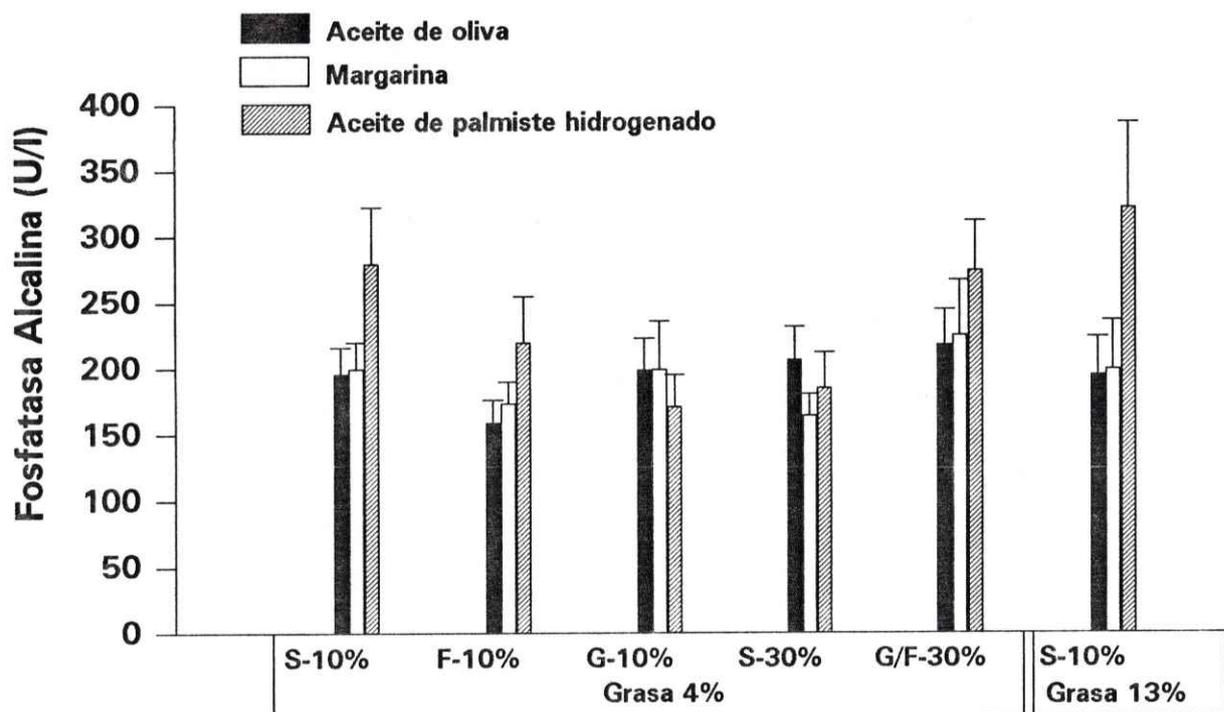
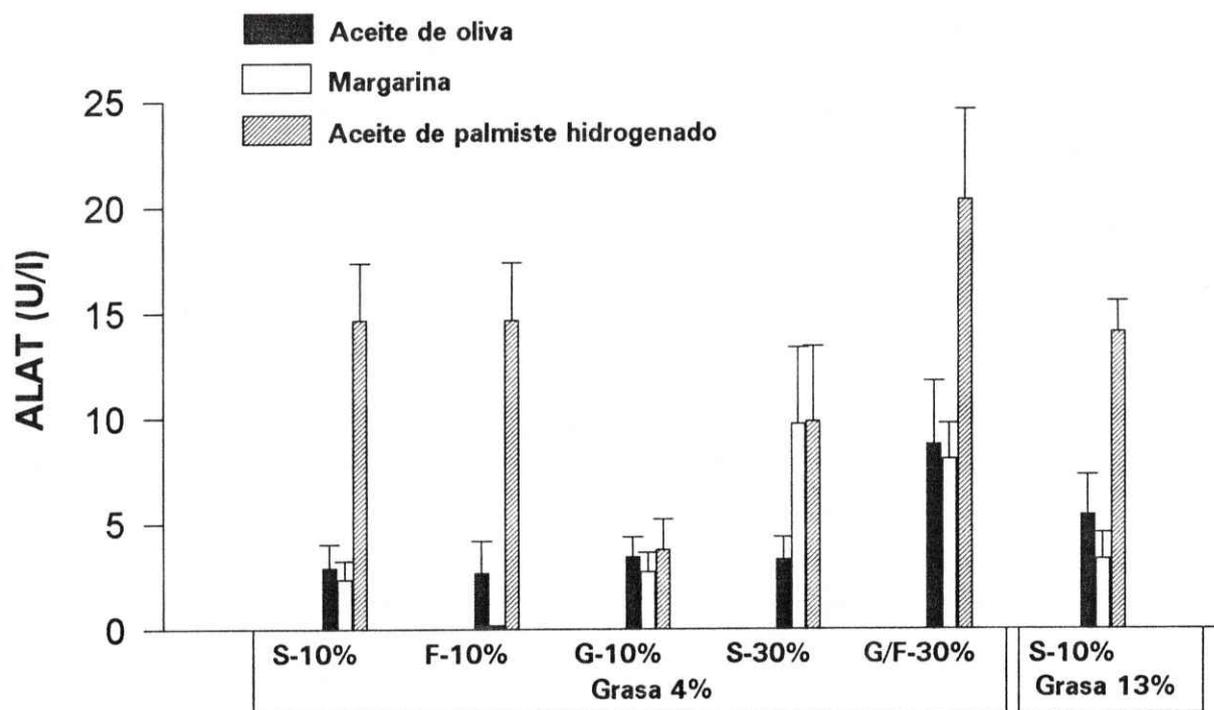


Figura 8. Variaciones de la ALAT y de la fosfatasa alcalina en los distintos experimentos.

En el caso de la fosfatasa alcalina la situación es similar (Fig. 8), por un lado los mayores valores de la actividad enzimática se obtuvieron con las dietas que contenían los dos monosacáridos en las mayores proporciones y con la dietas que contenían sacarosa al 10% ($p < 0,05$) (Tablas 23.2 y 23.2.1). Probablemente, en este último caso, si nos centramos en los valores de la actividad enzimática en este grupo de tres dietas, observamos que la realizada con sacarosa al 10% y aceite de palmiste hidrogenado provocó los mayores incremento en la actividad del enzima, manteniéndose la misma en un rango normal, cuando a los animales se les suministraron las dietas adicionadas con las restantes grasas. Y quizás esto provoca un valor medio mayor al comparar las tres grasas conjuntamente, para ver la influencia de los distintos azúcares.

Por otro lado, el efecto de la grasa de la dieta fue el mismo que para la actividad de la alanina aminotransferasa. Causando el aceite de palmiste hidrogenado los mayores aumentos en la actividad de la fosfatasa alcalina en el suero ($p < 0,05$) (Tabla 23.2 y 23.2.2).

Cuando se analizan los resultados del bloque experimental III modelos de dietas **A** y **F**, para estudiar la influencia de la fuente y cantidad de grasa, se puede observar, que tanto para la actividad de la alanina aminotransferasa como para la fosfatasa alcalina, se alcanzan los valores de mayor magnitud con el aceite de palmiste hidrogenado a ambas proporciones en las dietas (4% y 13%) ($p < 0,05$) (Tablas 23.5, 23.5.1, 23.6 y 23.6.1), siendo considerados estas cifras para algunos autores como patológicas.

Todos estos resultados se confirman cuando se comparan entre si las dietas realizadas con los azúcares o las grasas en las mayores proporciones, modelos de dietas **D**, **E** y **F**. Donde se detecta que las ratas que consumieron las dietas realizadas con aceite de palmiste al 13% o con glucosa/fructosa al 30% y aceite de palmiste al 4%, poseen los mayores incrementos para ambos enzimas ($p < 0,05$) (Tablas 23.3, 23.3.1, 23.4 y 23.4.1).

Nuestros resultados coinciden con los de otros trabajos que describen incrementos de los niveles de ambas transaminasas en personas sometidas a regímenes ligeramente hipercalóricos y enriquecidos en sacarosa (PORIKOS y VAN ITALLIE, 1983) o con hiperalimentación enteral de carbohidratos, donde se ha observado incrementos en la aspartato aminotransferasa, y la fosfatasa alcalina (TULIKOURA y HUIKURI, 1982), o bien un incremento moderado de ambas transaminasas como inicial y única alteración (GRANT *et al.*, 1977; VAN

DOORMAAL *et al.*, 1987). Aumentos ligeros o moderados de la fosfatasa alcalina y elevaciones transitorias se dan en casi todos los tipos de hepatopatías (PODOLSKY y ISSELBACHER, 1986). También se han descrito aumentos de la fosfatasa alcalina en suero, dentro de rangos no patológicos, por una alimentación rica en glúcidos (WUARIN-BIERMAN y WECKER, 1988; BATTLES *et al.*, 1991) o lípidos (BOURRE *et al.*, 1990) o en casos de procesos infiltrativos producidos por la dieta (BOGIN *et al.*, 1986).

En las lesiones infiltrativas del hígado por daño en el hepatocito, ciertos trabajos indican que el cambio analítico más específico (ITOH *et al.*, 1987) y de mayor sensibilidad es el aumento de la alanina aminotransferasa en el suero (MORENO, 1993). De hecho en las esteatosis no alcohólicas en ratas y en ratones se han observado incrementos de esta actividad enzimática (BOGIN *et al.*, 1986; NISHINA *et al.*, 1990). Ya que, para otros un incremento de la aspartato aminotransferasa es indicativo de procesos más avanzados, como pudiera ser la necrosis (MIÑO y LOPEZ, 1985).

Incluso en estos mismos procesos infiltrativos en ocasiones, se pueden observar elevaciones aisladas de la fosfatasa alcalina o valores altos en relación con las transaminasas (PODOLSKY y ISSELBACHER, 1986; LEAL *et al.*, 1989; DE LA MORENA y GONZALEZ; 1989).

Se cree que los cambios enzimáticos solamente podrían servir como un índice específico para detectar el daño hepático tempranamente (ABRASHEV *et al.*, 1987). Puesto que, aunque el aumento de las actividades enzimáticas en el plasma es paralelo y constituye un buen índice de la extensión del daño celular en el parénquima hepático (PODOLSKI y ISSELBACHER, 1986; HOLEČEK *et al.*, 1986; NAGAI *et al.*, 1988; LÖSCHER *et al.*, 1992), pero no se pueden hacer correlaciones cuantitativas precisas en muchas hepatopatías (GALAMBOS y WILLS, 1979; PODOLSKY y ISSELBACHER, 1986). No existe una correlación absoluta entre la actividad enzimática en el suero y el grado de la lesión histológica; así en enfermedades infiltrativas puede coexistir una lesión histológica con un perfil enzimático normal, debido a que las hepatopatías secundarias en la mayoría de los casos son asintomáticas o paucisintomáticas (PASTOR y LASO, 1983; MORENO, 1993), aunque puede suceder lo contrario, que se encuentren pruebas de función anómalas en ausencia de lesiones histopatológicas (BOLANT *et al.*, 1989, 1990).

Por otro lado, los resultados de los análisis histológicos demuestran que

en la gran mayoría de los animales donde se había producido un mayor depósito de lípidos en el hígado, éste estaba localizado a nivel de la región periportal o en la zona 1 del acino hepático (Figs. 2c ,2f, 3a, 3b, 4b, 4c, 4f y 4g).

La mayor actividad plasmática de la alanina aminotransferasa, detectada en estos animales, podría estar en relación, con el modelo de zonación metabólica del hígado, que propone que este enzima esta localizado preferentemente en la zona periportal, siendo de 1,6 a 5 veces mayor su cantidad en esta zona que en la zona perivenosa (KATZ y JUNGERMANN, 1989; JUNGERMANN, 1986, 1988, 1992), su elevación es bastante específica de lesión del hepatocito y sería una consecuencia de la lesión o destrucción celular de los hepatocitos periportales por un acúmulo graso, con el consiguiente escape del enzima hacia la circulación sistémica.

Todos estos hechos y consideraciones podrían sugerir, que estas altas ingestas de monosacáridos y/o grasa severamente hidrogenada, insinúan un daño en el hígado que envía mayor cantidad de estas enzimas al plasma, marcadoras entre otras de la función hepática y, por tanto, podrían indicar presunción de este daño (PODOLSKI y ISSELBACHER, 1986; NAGAI *et al.*, 1988). Estas alteraciones del perfil enzimático en el plasma podrían explicarse por el desarrollo de daño estructural del hepatocito, por deposición aumentada de glucógeno (VAN DOORMAAL *et al.*, 1987) y sobre todo como en nuestro caso por acumulación de lípidos .

En todos los experimentos los valores de la actividad enzimática en plasma de la γ -glutamyltranspeptidasa fueron nulos o indetectables. Hecho que coincide con los trabajos sobre daño hepático utilizando como modelo animal a la rata Wistar, en la que la actividad enzimática en el suero es nula o indetectable (KARSENTY *et al.*, 1985); o no es inducible en el plasma, como sucede en otras estirpes de ratas, tras tratamientos lesivos del hígado (BOGIN *et al.*, 1986; DOOLITTLE *et al.*, 1987; LÖSCHER *et al.*, 1992).

5.4.- SOBRE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE ALGUNOS METABOLITOS

los valores de colesterol total (Tabla 24) no han sobrepasado los datos de normalidad en todos nuestros experimentos y son muy semejantes entre si, lo cual quiere decir que ni el tipo de glúcido, ni el tipo de grasa es capaz de modificar el nivel plasmático de colesterol a los niveles utilizados por nosotros. En principio podría parecer sorprendente, ya que las grasas utilizadas variaron desde aceite de oliva hasta una grasa sólida fuertemente hidrogenada y por tanto, en teoría muy colesterogénica. A nosotros esta aparente contradicción no nos parece tal por varios motivos:

En primer lugar porque en los animales normales la síntesis de colesterol está muy bien regulada.

En segundo, porque las dietas utilizadas no tienen un alto nivel de lípidos y se encuentran dentro de los requerimientos energéticos para estos animales 2.5-3 Kcal/g; 3,8 Kcal/g (CLARKE *et al.*, 1977; KHON y BARTHOLD, 1984), ni siquiera las que contenían un 13%, ya que dietas altas en grasa para esta especie son consideradas a partir de un contenido energético de 4,6 Kcal/g ó 4,9 Kcal/g (COATES, 1976; OSCAI *et al.*, 1984).

En tercer lugar habría que considerar el nivel de ingesta calórica que fue muy semejante en todos los animales y para todas las dietas, como corresponde a animales que tuvieron libre acceso al alimento.

En estas circunstancias nosotros no esperábamos que se produjeran variaciones en la colesterolemia que sobrepasasen los rangos de normalidad.

De la observación de los resultados podría desprenderse además de lo dicho, que los menores valores de colesterol, siempre dentro de la normalidad, los alcanzan los animales que tomaron margarina y el mínimo valor de la colesterolemia lo tuvieron los animales alimentados con el 13% de esta grasa, posiblemente como consecuencia de la cantidad de ácido linolénico que presentaban estas dietas. Ya que se conoce que los ácidos grasos poliinsaturados de la familia $\omega 6$, disminuyen la cantidad de colesterol total y de triglicéridos plasmáticos (BEYNEN y KATAN, 1989; HAYES y KHOSLA, 1992).

Los valores de la HDL-colesterol están dentro de los rangos normales y no existen diferencias en base a los distintos tratamientos (Tabla 24). Quizás lo más sorprendente es que los distintos tipos de grasa no hayan producido ningún

cambio ni en el colesterol total, ni en la HDL-colesterol, pero teniendo en cuenta que las ingestas energéticas no han sufrido cambios y que los animales no presentaban ningún síntoma de obesidad manifiesta, se encontraban dentro de los rangos normales, lo previsible es que no se produzcan cambios. En nuestra opinión para que estos se pongan de manifiesto es necesario que las ingestas se alteren notablemente o que el desequilibrio en la dieta sea muy grande.

Debido a que la rata es relativamente insensible a las variaciones del colesterol plasmático por la dieta (LAGROST y BARTER, 1991; WELCH y BORLAKOGLU, 1992) para que se produzcan cambios en el nivel plasmático de colesterol vía dieta, es necesario utilizar modelos que respondan a cambios de composición muy desequilibrados como los utilizados en distintos trabajos (DESHAIES, 1986; ZSINKA *et al.*, 1987a, 1987b; HØSTMARK *et al.*, 1989; MONSMA y NEY, 1993) y otras dietas que además contienen una gran cantidad de colesterol y ácidos biliares (ZSINKA *et al.*, 1988; GURR *et al.*, 1989, NISHINA *et al.*, 1990; ÖNER *et al.*, 1991, conocidas como dietas aterogénicas.

Los triglicéridos sufren variaciones de mayor o menor nivel (Tabla 24), pero estos cambios están dentro de la normalidad para esta especie, no obstante nos gustaría resaltar algunas peculiaridades que nos parecen importantes.

Cuando a los animales se les suministraron las dietas con la grasa al 4%, los mayores valores de los triglicéridos plasmáticos se alcanzan con las dietas que contenían el aceite de palmiste hidrogenado ($p < 0,05$) (Tablas 24.1 y 24.1.2).

Los valores más bajos se obtiene para las otras dos fuentes lipídicas utilizadas, entre las que no existen diferencias estadísticamente significativas.

Si se observan los valores de la trigliceridemia (Tabla 24) para todos los lotes de ratas a los que se les suministró esta fuente lipídica, nos encontramos con un hecho que llama la atención. Que los animales de los lotes **S10 P4** y **F10 P4**, poseen valores de triglicéridos plasmáticos elevados y el resto de ratas que consumieron esta grasa, poseen valores normales, lotes **G10 P4**, **S30 P4** y **GF30 P4** incluso, el lote alimentado con la mayor proporción de esta grasa **S10 P13**, algo que a primera vista, parece una contradicción. Este hecho puede explicarse cuando se observan los valores de los índices que relacionan la ingesta de alimento y la ingesta proteica con el crecimiento, en la última semana de experimentación (Tablas 18 y 19 y figura 7). Se puede detectar que los animales de los lotes que no pierden peso y sus valores de **IEA** y **CEC** no muestran cambios en esta tercera semana respecto de las otras grasas, coinciden que son los

que poseen los mayores valores de la trigliceridemia. Por el contrario, en el resto de los lotes que ingirieron esta grasa, se advierte que algunos dejan de crecer y otros incluso comienzan a perder peso y todos los lotes tienen los valores de triglicéridos del plasma dentro de la normalidad. Todo ello nos lleva a pensar, que estos animales se encuentran en un estado general lipolítico y el valor de los triglicéridos no debiera ser alto, como así ha sucedido.

Probablemente, la causa se encuentre dentro de las múltiples alteraciones que se engloban en una deficiencia en ácidos grasos esenciales, provocada por el consumo de esta grasa. Nuestra opinión es que las diferencias encontradas entre los lotes, puedan deberse a diferentes antecedentes dietéticos entre ellos, los animales de los lotes **S10 P4** y **F10 P4** debían de tener una mayor reserva de ácidos grasos esenciales y todavía no manifestaban los mismos síntomas de la deficiencia en ácidos grasos que el resto de los animales que consumieron el aceite de palmiste hidrogenado.

Sucede que estos animales son los que habían acumulado mayores cantidades de lípidos en el hígado, posiblemente por falta de capacidad hepática para exportarlos, por los mecanismos ya expuestos; y/o en primer lugar por una dificultad del tejido adiposo u otros tejidos periféricos para captar los ácidos grasos de las partículas ricas en triglicéridos, como consecuencia de una menor actividad de la lipoproteinlipasa de estos tejidos, que favorecería la acumulación de lípidos en el hepatocito, como ha sido observado en ratas alimentadas con una dieta deficiente en ácidos grasos esenciales, donde se detecta un descenso significativo de la actividad de la lipoproteinlipasa en el tejido adiposo (LEVY *et al.*, 1990) y un aumento en la actividad de la lipasa hepática (HJELTE *et al.*, 1990; LEVY *et al.*, 1990). Teniendo en cuenta que otra de las fuentes que participan en el ingreso de ácidos grasos al hígado, es el retorno de lipoproteínas circulantes desde los tejidos periféricos, y que la aportación por este mecanismo es dependiente de la actividad de la lipasa hepática sobre los triglicéridos de estas partículas, en nuestra situación el proceso probablemente estaría favorecido. Además todo ello puede verse favorecido en la rata, por la posesión, en las lipoproteínas ricas en triglicéridos y en sus remanentes, de apoproteína B₄₈, por la que son rápidamente reconocidos y captados por el hígado (GIBBONS, 1990; WELCH y BORLAKOGLU, 1992; STANLEY *et al.*, 1992). En segundo lugar, las situaciones que provocan un incremento de la lipólisis periférica, principalmente en el tejido adiposo, también se han demostrado que son una de

las fuentes de ingreso de ácidos grasos al hígado (GIBBONS, 1990; GIBBONS y BURNHAN, 1991). Por otro lado no se conoce si existe una zonación metabólica en el hígado para la secreción de lipoproteínas ricas en triglicéridos, ni las capacidades zonales para el procesamiento de remanentes de quilomicrones, pero pudiera ser que para las primeras existiera una mayor capacidad de secreción en la zona perivenosa (JUNGERMANN, 1988, 1989).

Todo este conjunto de situaciones: un aumento en la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos a partir de glúcidos, un impedimento hepático en la formación de lipoproteínas ricas en triglicéridos y/o un aumento en el ingreso de ácidos grasos y lipoproteínas procedentes de tejidos periféricos, provocan un mayor flujo de grasa al hígado. El depósito graso aparece en las zonas periportales o aferentes debido probablemente, a que es esta zona del parénquima hepático la que se encuentra perfundida por una sangre que oferta mayores concentraciones de nutrientes y probablemente menor capacidad de secreción de lipoproteínas. Nuestra situación es diferente a la que sucede por lo general, cuando se describe histológicamente esteatosis producidas por otras causas, la grasa se acumula preferentemente en la zona centrilobulillar del acino de Rappaport y cuando su severidad morfológica es mayor, su distribución es más difusa. En estos casos los daños han sido producidos por un gran flujo de energía que llega al hígado como en la esteatosis secundaria a la obesidad (MORENO, 1993) o por tóxicos como el etanol en la esteatosis alcohólica o hígado graso alcohólico (HERRERIAS, 1983; ALIAGA y PRIETO 1985; ISSELBACHER y La MONT 1986).

Cuando los animales tomaron las dietas conteniendo un 13% de lípidos presentaban en su conjunto los menores niveles de triglicéridos plasmáticos, en relación al menos con lo que nosotros pensamos que deberían tener, en base a que en estas dietas el 30% de la energía lo proporciona la grasa. Pero los animales controlaron la ingesta energética y por lo tanto de estas dietas consumieron una menor cantidad y en el caso de la que contenía el aceite de palmiste hidrogenado los animales en la tercera semana ingirieron una cantidad significativamente menor (un 15%) (Tablas 12 y 13) y como la extracción de la sangre se realizó al final de esta semana, este hecho afectó a los niveles plasmáticos de los distintos metabolitos y especialmente de los triglicéridos.

Por lo que se refiere a los cambios detectados en la concentración plasmática de fosfolípidos (Tabla 24), siguen la misma pauta que el resto de los

parámetros que componen el perfil lipídico analizado, encontrándose todos los valores dentro del rango de normalidad para esta especie.

Los animales alimentados con el aceite de palmiste hidrogenado junto con los animales alimentados con aceite de oliva poseen los mayores valores de fosfolípidos en el plasma. En los primeros animales, este aumento de los fosfolípidos plasmáticos puede deberse a la hipertrigliceridemia asociada a una deficiencia en ácidos grasos esenciales, cuando se someten ratas a dietas ricas en ácidos grasos saturados y deficientes en ácidos grasos esenciales, como nos sucede ha nosotros y ha sido observado en otros trabajos (HÜLSMANN y KORT, 1983; LEVY *et al.*, 1990). Aunque, otros investigadores no observan, hipertrigliceridemia asociada a una deficiencia en ácidos grasos esenciales (VERGROESEN, 1989).

Los menores valores de los fosfolípidos plasmáticos se observan en las ratas alimentadas con la margarina ($p < 0,05$) (Tablas 24.2 y 24.2.2), este hecho puede deberse a que estas ratas ingirieron una mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados de la serie $\omega 6$ (Tabla 17) y se conoce que estos en la rata (HØSTMARK *et al.*, 1989; CHOI *et al.*, 1989; ŽACK *et al.*, 1990; PARRISH *et al.*, 1991; BOURRE *et al.*, 1992; RUSTAN *et al.*, 1992; WILLUMSEN *et al.*, 1993a, 1993b) o en cerdos (FAIDLEY *et al.*, 1990) ejercen una acción hipolipemiente en general, con descensos de los valores plasmáticos de fosfolípidos. Esta disminución en los valores de fosfolípidos probablemente sea debida a una menor formación de lipoproteínas ricas en triglicéridos.

La proteinemia como podríamos suponer así como, el ácido úrico no han variado y están dentro de la más absoluta normalidad (Tabla 25). Los animales fueron alimentados con una fuente de proteína de excelente calidad y en cantidad adecuada. Dado que las proteínas totales en sangre son un reflejo de la biosíntesis hepática, de la ingesta proteica y del catabolismo proteico (LEAL *et al.*, 1989). Esta proteína posee una digestibilidad y un valor biológico, próximos al 100%, por lo que en cualquiera de las situaciones e incluso para las menores ingestas, los requerimientos de proteína quedaban sobradamente cubiertos.

los valores de ácido úrico plasmático coinciden con los resultados de distintos trabajos, en los que no se producen cambios en su concentración cuando los glúcidos, especialmente la fructosa, que son los que pudieran producir un incremento de la uricemia y descensos de las tasas biosintéticas del hígado, incluyendo a la síntesis proteica (LINDER, 1991), son suministrados de una

forma oral (ROMSOS y LEVILLE, 1974; NIEWOEHNER *et al.*, 1984) o en la dieta (FERGUSON y KOSKI, 1990).

5.5.- INFLUENCIA DE LA DIETA SOBRE LOS ÁCIDOS GRASOS PLASMÁTICOS

Al comenzar este apartado vale la pena recordar que las dietas utilizadas tenían un perfil en ácidos grasos muy diferente en lo que se refiere a su composición en ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados (Tabla 7), lo cual permite contemplar diferentes aspectos simultáneamente al estudiar las distintas fracciones de los lípidos plasmáticos en los animales de experimentación que se sometieron al consumo de dichas dietas por un periodo de tiempo de algo más de tres semanas.

a) Repercusión del déficit dietético en ácidos grasos esenciales sobre los animales de experimentación.

b) Variaciones en el acidograma de las distintas fracciones de los lípidos plasmáticos.

c) Relación entre la composición en ácidos grasos de la dieta y la composición en los mismos de las distintas fracciones de los lípidos plasmáticos.

a) Al estudiar la composición en ácidos grasos de la dieta y la ingesta que de la misma han realizado los animales de experimentación (Tabla 17), observamos que no se han cubierto los requerimientos en ácidos grasos esenciales (linoleico y α -linolénico) en un gran número de ensayos: en el caso del ácido linoleico, en todos aquellos dietas en que se utilizó como fuente lipídica el aceite de palma hidrogenado e igualmente cuando la grasa fue aceite de oliva al 4%. Las ingestas también fueron deficientes en ácido α -linolénico cuando los animales consumieron dietas con aceite de palma hidrogenado como fuente lipídica.

Por lo tanto en un gran número de casos, un 61%, las ingestas se apartaron de las recomendaciones en ácido linoleico y en un 33% de los experimentos (algo más del 50% de los anteriores) además, la deficiencia se amplía al ácido α -linolénico. Se trata por tanto de una alimentación ajustada en lo que se refiere a los restantes nutrientes y oligoelementos pero notablemente desequilibrada en ácidos grasos esenciales.

Una vez más en el campo de la nutrición, tras 24 días de experimentación con estas dietas deficientes en ácidos grasos esenciales no aparecen signos clínicos, evidentes de estas deficiencias. No se producen ni trastornos importantes, ni tampoco de forma inmediata, por lo que resulta difícil establecer una relación causa-efecto. Hace falta esperar hasta dos semanas después de estar

consumiéndose estas dietas, para detectar en algunos casos, y no en todos, disminuciones o deficiencias en el crecimiento, sobre todo en el caso del aceite de palmiste hidrogenado.

Es a nivel del estudio de los lípidos plasmáticos donde se han visualizado más fácilmente estas deficiencias, gracias a que se inicia la aparición de determinados marcadores que evidencian pobres ingestas de ácidos grasos esenciales, tal es el caso del ácido C20:3 ω 9 (HOLMAN, 1960; VERGROESEN, 1989; SARDESAI, 1992; NELSON; 1992), que aparece cuando se utilizaron las dietas citadas y no cuando la fuente lipídica fue la margarina, en cuyo caso las ingestas de ácidos grasos esenciales estaban por encima de los requerimientos, sobre todo se detecta la aparición de C20:3 ω 9 en los ácidos grasos totales y en los fosfolípidos plasmáticos (Tablas 26 y 27). Para que aparezcan cantidades apreciables de ácido eicosatrienoico, que indique una deficiencia en ácidos grasos esenciales distintos investigadores han necesitado de periodos experimentales de mayor duración al utilizado por nosotros: 8 semanas (SCHRIJVER y PRIVETT, 1982; HUANG *et al.*, 1984), meses (HOLMAN *et al.*, 1991) o incluso años (KURATA y PRIVETT, 1980; LEVY *et al.*, 1990). Contrariamente, cuando la duración de los experimentos ha sido inferior a nuestro periodo de ensayo, no se ha detectado la aparición de ácido eicosatrienoico en experimentos realizados en humanos (VAN DOORMAAL *et al.*, 1987) o en ratas (NELSON *et al.*, 1987); o cuando, con roedores, la duración de los experimentos ha sido similar a la nuestra, los niveles en plasma alcanzados por este marcador no indicaron una deficiencia en ácidos grasos esenciales debido a que aunque el hígado juega un papel crítico en el mantenimiento de la homeostasis de los ácidos grasos poliinsaturados, deben existir algún tipo de atenuación por otros tejidos además de éste (LEFKOWITH, 1990).

No obstante nos queda una pequeña duda. En el caso de las dietas con aceite de palmiste hidrogenado, que son las más desequilibradas en este aspecto de los ácidos grasos esenciales, la explicación está suficientemente clara. Sin embargo, en el caso de las dietas a base de aceite de oliva la explicación permite una duda razonable; por un lado, el desajuste es menor, y por otro, la riqueza de estas dietas en ácido oleico es muy grande, lo que permite entender que se forme el C20:3 ω 9 por la desaturación y la elongación y no tanto como consecuencia del déficit de ácidos grasos esenciales, como veníamos diciendo. Valores de ácido trienoico similares a los hallados en los distintos experimentos, han sido obtenidos

por otros autores en distintos fosfolípidos hepáticos (PERIAGO *et al.*, 1988) y plasmáticos (GIBSON *et al.*, 1992) de ratas alimentadas con aceite de oliva como única fuente lipídica de la dieta. Y como de hecho sucede en otros trabajos, donde las cantidades relativamente bajas de linoleico de la dieta no impidieron la inhibición de la síntesis de metabolitos de oleico presente en la misma (NAUGHTON *et al.*, 1988).

Otro índice discriminatorio de deficiencia en ácidos grasos esenciales es el aumento en la relación palmitoleico/linoleico de los lípidos plasmáticos (LEVY *et al.*, 1990). En nuestros experimentos, cuando se calcula esta relación (Tablas 36 y 37) observamos que es significativamente diferente ($p < 0,05$) (Tablas 37.1 y 37.1.1) y aumenta en el siguiente orden: aceite de palmiste hidrogenado > aceite de oliva > margarina. Lógicamente en el caso de los animales alimentados con el aceite de oliva al 13%, la relación palmitoleico/linoleico es significativamente menor ($p < 0,05$) que cuando consumen dietas con el mismo aceite al 4% (Tablas 37.4 y 37.4.1), debido a que los animales en el primer caso si ingieren los requerimientos en ácido linoleico y mantienen una relación semejante a la alcanzada por los animales que ingirieron margarina al 4% (Tablas 36 y 37), o lo que es lo mismo, consumen cantidades aproximadamente similares de ácido linoleico (Tabla 17).

Por último se debe llamar la atención sobre el aspecto importante de que tras el periodo de consumo de estas dietas pobres en los citados ácidos grasos esenciales, no se hayan manifestado claramente las deficiencias nutritivas. Ello es debido a la historia o los antecedentes dietéticos previos, en los cuales los animales ingirieron dietas muy ricas en estos ácidos grasos poliinsaturados. Nuestros animales fueron alimentados con un pienso comercial que contenía un 4% de aceite de soja sin hidrogenar hasta el comienzo de los experimentos, que contenía un 50% de linoleico y un 8% de α -linolénico. Y parte de ellos han debido acumularse en el tejido adiposo, debido a que el ácido linoleico se ha visto que en rata se acumula en el tejido adiposo cuando se suministra en la dieta. Distintos investigadores han observado que este ácido en el tejido adiposo se encuentra en valores cercanos a un 20%, en ratas de 120 a 140 días de edad, alimentadas con un pienso comercial (NELSON *et al.*, 1987); o valores por encima de este cuando han sido alimentadas con aceite de maíz o manteca (HILL *et al.*, 1993) o aceite de girasol (LHUILLERY *et al.*, 1988). En los triglicéridos de tejido adiposo se ha observado un contenido aproximadamente de un 50% o

de un 12% de ácido linoleico, cuando las ratas fueron alimentadas 7 semanas con aceite de girasol o de palma respectivamente (VAN AMELSVOORT *et al.*, 1988a, 1988b, 1988c) o del 33% cuando lo fueron con aceite de maíz (SHEPPARD y HERZBERG, 1992); o alcanzó valores del 20%, 40% y 25% cuando fueron alimentadas un mes con fuentes lipídicas que aportaban un 9%, un 60% o un 10% del mismo (AWAD *et al.*, 1990). En algunos trabajos se indica que el contenido de linoleico en los triglicéridos del tejido adiposo se mantiene tres veces por encima del que se les suministra en la dieta (LANDS *et al.*, 1990). Durante el periodo posterior de experimentación, el ácido linoleico depositado, se fue liberando seguramente debido, entre otros motivos, a la rápida y continua movilización de los lípidos de depósito en la rata (WHITE *et al.*, 1983) y por tanto cubriendo en gran medida o totalmente las necesidades que de ellos tenían los animales. Todo esto hace difícil establecer una conclusión clara y aún más difícil, cuánto tiempo es el mínimo o máximo que se debe considerar para que aparezcan trastornos mesurables, ya que habría que tener una idea precisa de la historia alimentaria y del estado de los depósitos, lo cual permitiría cambios en las recomendaciones de entidad e importancia.

b) Los análisis de los ácidos grasos de las distintas fracciones lipídicas del plasma son difíciles de interpretar, si se pretende estudiar lo que ocurre con cada uno de los ácidos grasos, ya que son dieciocho los ácidos grasos considerados en el ensayo para cada fracción lipídica: ácidos grasos totales (Tabla 26), fosfolípidos (Tabla 27), ácidos grasos libres (Tabla 28), triglicéridos (Tabla 29) y ésteres de colesterol (Tabla 30) y, además, sus proporciones son muy distintas de unos a otros lípidos y de unas dietas a otras. Por lo que se hace muy difícil mantener una discusión sobre valores absolutos y aún más cuando en el organismo, en el hígado, se pueden producir con facilidad cambios en la longitud de la cadena y en el número y posición de los dobles enlaces, con lo cual en cada momento lo que encontramos es la consecuencia de todo este gran proceso metabólico que incluye elongaciones y desaturaciones, además de todos aquellos otros procesos de destrucción o utilización con fines energéticos o plásticos de formación de nuevas estructuras y también de la influencia que sobre todo esto pueda tener la dieta como discutiremos en el próximo apartado.

Por ello las variaciones individuales pueden además de no tener un significado funcional, no ser explicables. Sin embargo si vale la pena destacar algunos aspectos. Así, por ejemplo el espectro de los ácidos grasos de los lípidos

totales del plasma pone de manifiesto, dentro de la variabilidad y heterogeneidad que hemos manifestado, que son siempre cinco los ácidos grasos mayoritarios: (palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1 ω 9), linoleico (C18:2 ω 6) y araquidónico (C20:4 ω 6)) (Tabla 26). Ello parece indicar que existen unos finos procesos de regulación a nivel hepático que establecen a largo o corto plazo unos ajustes que conducen a un perfil concreto y que pueden ser específicos de especie y por lo tanto imbricado con la genética (WAKU, 1992), ya que si unas especies tienen unas determinadas elongasas y desaturasas y otras no, es evidente que se formarán unos ácidos grasos mayoritariamente y no otros.

Al estudiar la composición porcentual en ácidos grasos de los triglicéridos plasmáticos, lo que observamos es todavía más restrictivo, ya que en más del 66% de los casos los ácidos grasos mayoritarios fueron palmítico, esteárico y oleico y en el 33% de los casos restantes, el esteárico fue en parte sustituido por el linoleico o, lo que es lo mismo, los ácidos palmítico y oleico prácticamente formaban parte siempre de los triglicéridos; y en proporción 3 a 1 estaban o el esteárico o el linoleico, y formando parte muy constante y mínima, el mirístico. Otra vez se pone de manifiesto la gran constancia en la composición de esta fracción de los lípidos del plasma.

Cuando estudiamos el espectro de los ácidos grasos que forman parte de los fosfolípidos, nos encontramos con un perfil semejante al de los lípidos totales, con una coincidencia exacta en los ácidos grasos y en sus proporciones relativas. El más abundante es el esteárico, seguido de palmítico y oleico, entre los que existen en general muy pocas diferencias, y, más alejados, araquidónico y, por último, linoleico.

Por lo que se refiere a los ácidos grasos libres del plasma la situación es todavía más sencilla; solo aparecen seis ácidos grasos de los cuales mayoritariamente se corresponden en más del 90% con palmítico esteárico y oleico, los residuales son mirístico y linoleico y en una proporción menor del 2% el palmitoleico. La ausencia del ácido α -linolénico se explica porque sus niveles son siempre muy bajos, es requerido por retina y cerebro en cantidades pequeñas y es utilizado por el hígado para biosintetizar eicosapentenoico y docosahexenoico, que son los que aparecen en el plasma pero en muy pequeñas cantidades, siendo el mayor este último.

Por último los ésteres de colesterol están formados por los ácidos grasos de que disponemos, por tanto todos los que hemos mencionado hasta ahora han

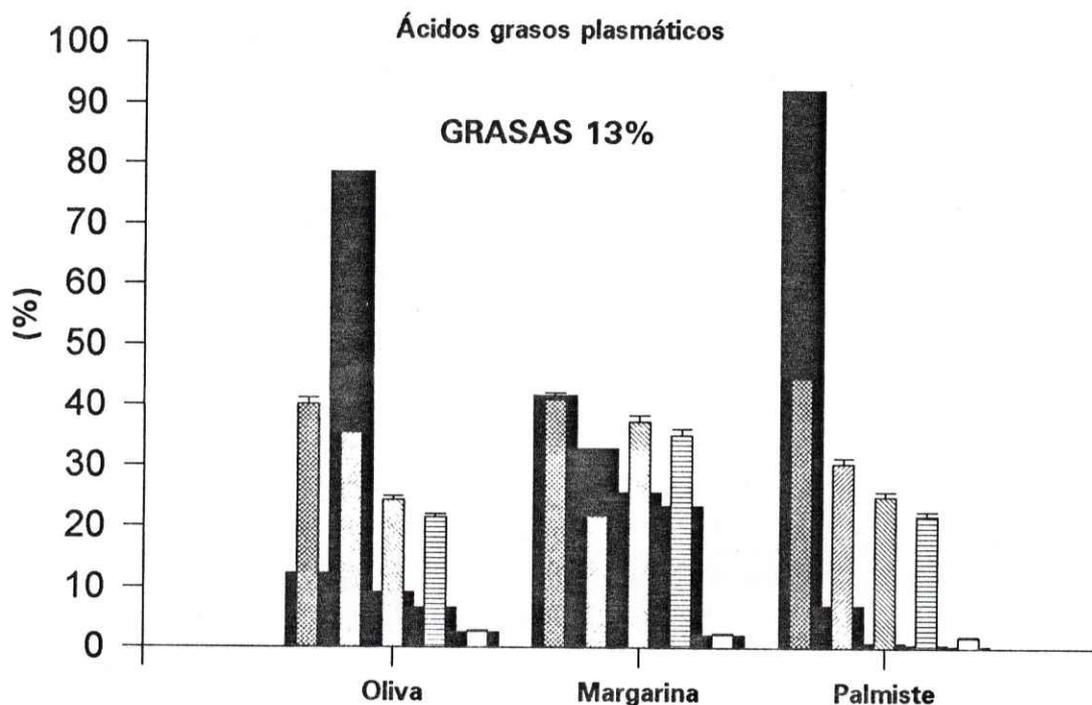
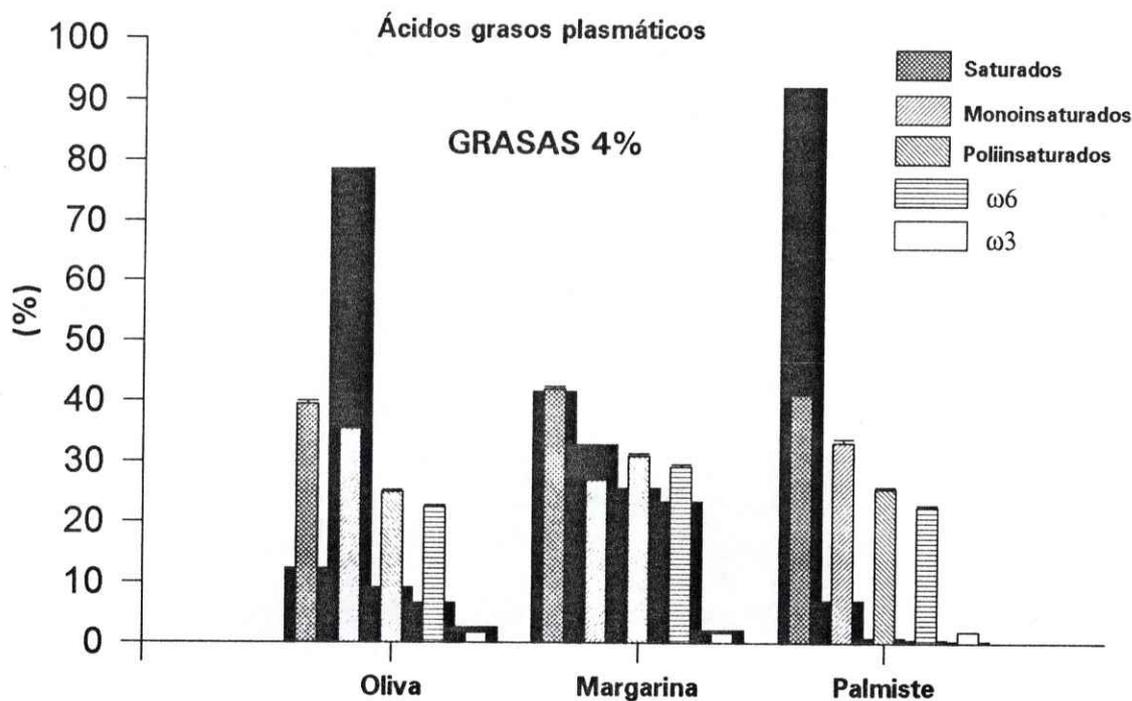


sido capaces de esterificar al colesterol, pero como en los casos anteriores seis han sido los más importantes, al menos cuantitativamente: palmítico, esteárico, oleico, palmitoleico, linoleico y araquidónico, siendo la entidad de todos ellos o mejor de cada grupo muy parecida.

c) Después de haber estudiado la amplia variabilidad de los ácidos grasos plasmáticos y del poco significado fisiológico que a veces estas variaciones pueden tener, es por lo que parece conveniente a la hora de comparar los espectros entre los perfiles de ácidos grasos ingeridos y los que aparecen en los lípidos plasmáticos, el agruparlos en los distintos experimento en: saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, haciendo referencia cuando proceda dentro de estos a la serie $\omega 6$ y $\omega 3$, para las distintas fracciones plasmáticas estudiadas: ácidos grasos totales (Tabla 31), fosfolípidos (Tabla 32), ácidos grasos libres (Tabla 33), triglicéridos (Tabla 34) y ésteres de colesterol (Tabla 35); o para las diferentes fracciones lipídicas agruparlos del mismo modo pero en lotes de animales que hayan ingerido el mismo tipo y la misma cantidad de grasa en la dieta, independientemente del azúcar: ácidos grasos totales (Figura 9), triglicéridos (Figura 10), fosfolípidos (Figura 11), ésteres de colesterol (Figura 12) y ácidos grasos libres (Figura 13).

Algunos autores indican que los grandes cambios en la cantidad y en el tipo de los ácidos grasos consumidos no se reflejan, o solamente en cierta medida, en la composición ácida de los lípidos totales plasmáticos (HORNSTRA, 1989; SCHRIJVER *et al.*, 1992; WOOD *et al.*, 1993). Cuando, como en los casos anteriores, estudiamos en su conjunto los ácidos grasos totales de todos los lípidos plasmáticos, observamos que los saturados permanecen relativamente constantes sea cual sea el tratamiento y es independiente del nivel y tipo de glúcido de la dieta así como del tipo y nivel de grasa (Tabla 31 y Fig. 9). Incluso para dietas tan diferentes como las realizadas con aceite de oliva, que proporciona una pobre ingesta de ácidos grasos saturados, y la del aceite de palmiste hidrogenado, que los proporciona de manera casi exclusiva, formándose fundamentalmente palmítico y en segundo lugar esteárico. En este aspecto da la impresión que el hígado transforma con cierta facilidad y rápidamente todos los ácidos grasos saturados de la dieta en estos dos con independencia de cuáles, cuántos y cuánto se ingiera de esta familia, hasta tener un nivel que debe estar finamente regulado ya que en dieciocho situaciones dietéticas diferentes han confluído en una misma situación plasmática global. Resultados similares a los nuestros han sido obtenidos

Figura 9. Comparación del perfil de los distintos tipos de ácidos grasos ingeridos, con el hallado en los ácidos grasos totales del plasma.



en ratas a las que no se les suministraron estos dos ácidos grasos en la dieta, pero mantuvieron unas proporciones constantes de ambos en el plasma (HALMINSKI *et al.*, 1991) o en distintas estirpes de ratas a las que se alimentó con diferentes fuentes lipídicas y se vio que hubo un efecto muy pequeño de la dieta sobre el nivel de los saturados o del tipo de saturado en las distintas fracciones lipídicas (GIBSON *et al.*, 1992); o variaciones de pequeña entidad en el contenido de linoleico, monoinsaturados y saturados han sido obtenidas en ratas a las que se les suministraron suplementos de ácidos grasos poliinsaturados en las dietas (YAMAZAKI *et al.*, 1992). También ha sido observada una cierta resistencia a variar por alteraciones de la fuente lipídica de la dieta, en los ácidos grasos saturados del plasma en humanos (WOOD *et al.*, 1993) o del hígado en ratas alimentadas con fuentes lipídicas de muy distinta naturaleza (STANGL *et al.*, 1993).

Por lo que se refiere a los monoinsaturados, representados fundamentalmente por oleico y en muy pequeña proporción por palmitoleico, aunque en todos los casos la cantidad que aparece en el plasma es muy importante, las razones, los mecanismos o el origen, tienen que ser diferentes. Así cuando el tipo de grasa de la dieta fue el aceite de oliva, rico en ácido oleico y pobre en saturados, el nivel de este ácido en el plasma es importante y podemos deducir que proviene de la dieta, ya que cuando la dieta es rica en oleico éste aparece en mayor cantidad en los lípidos del plasma (CHANG y HUANG, 1990; SEPPÄNEN-LAAKSO *et al.*, 1993). También se ha observado que ni la suma total de ácidos grasos poliinsaturados, ni la de monoinsaturados, ni la relación poliinsaturados/saturados se vieron afectados por un cambio en el tipo de grasa dietaria, grasas animales y aceite hidrogenados a aceite de palma, en humanos y solamente se detectó un ligero aumento de los saturados (SUNDRAM *et al.*, 1992).

Cuando la dieta era pobre en oleico y rica en saturados (aceite de palmiste hidrogenado) los niveles de monoinsaturados plasmáticos fueron semejantes a los que se alcanzan en el caso del aceite de oliva (Tabla 31 y Fig. 9), pero su origen aquí es diferente. Ello es debido probablemente a la intensa actividad $\Delta 9$ -desaturásica del hígado de rata en estas circunstancias, que proporciona un alto nivel de oleico. Este aumento de la actividad del enzima se ha observado en ratas a las que se les ha provocado una deficiencia en ácidos grasos esenciales, por consumo de dietas carentes de grasa o de dietas con grasa muy saturada, como



en nuestro caso (KURATA y PRIVETT, 1980; SCHRIJVER y PRIVETT, 1982a, 1982b, 1983). Una medida indirecta de la actividad la $\Delta 9$ -desaturasa viene determinada por los incrementos en la relación palmitoleico/palmítico existente en los lípidos totales y en los fosfolípidos del plasma (VAN DOORMAAL *et al.*, 1987; BRENNER, 1989) o en los ácidos grasos de los microsomas hepáticos (LEIKIN y BRENNER, 1987). Así, cuando se calcula esta relación en los distintos experimentos (Tablas 36 y 37), observamos en las ratas alimentadas con el aceite de palmiste hidrogenado, un incremento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) de la misma, tanto en los ácidos grasos totales como en los fosfolípidos del plasma (Tablas 37.2, 37.2.1, 37.3, 37.3.1, 37.5, 37.5.1, 37.6 y 37.6.1), indicando por tanto una mayor actividad del enzima.

Al suministrar como fuente de grasa la margarina, la situación es intermedia. Existe un adecuado nivel de saturados que guardan una estrecha relación con sus niveles plasmáticos como hemos visto; pero, sin embargo, el nivel de oleico es significativamente menor que el que hemos encontrado en los otros dos casos y posiblemente como consecuencia del efecto inhibitor, sea estérico o de otro tipo, que ejercen los restantes ácidos grasos poliinsaturados y más concretamente el ácido linoleico, sobre la actividad de la $\Delta 9$ desaturasa (LEMARCHAL, 1988; BRENNER, 1989; CHRISTIANSEN *et al.*, 1991; BHATHENA, 1992; GRØNN *et al.*, 1992; STANGL *et al.*, 1993). Además, porque cuando se consumen ácidos grasos poliinsaturados, estos compiten con los monoinsaturados por esterificarse en los lípidos (NORUM *et al.*, 1989; LANDS *et al.*, 1990, 1992; LANDS, 1991).

El caso de los poliinsaturados es quizás el más sorprendente: su nivel es bastante constante e independiente al parecer de la ingesta. Así cuando la grasa de la dieta es aceite de palmiste hidrogenado que prácticamente no contiene ácidos grasos poliinsaturados, aparecen en una proporción importante en el plasma, semejante a la que aparece en el aceite de oliva que contenía una pequeña proporción y ligera pero significativamente inferior a la que aparece cuando la ingesta es alta en este tipo de ácidos grasos, como es el caso de la margarina (Tabla 31 y Fig. 9). Su valor absoluto es prácticamente la suma de los $\omega 6$ (linoleico y araquidónico) y en muy pequeña proporción aparecen los $\omega 3$, en forma fundamentalmente de docosahexenoico, ya que de eicosapentenoico existe muy pequeña cantidad y menos aún de α -linolénico.

Ya hemos mencionado que los niveles de estos ácidos grasos que no se

encuentran en la dieta y que son esenciales provienen de las reservas que estos animales habían acumulado en el periodo de alimentación anterior a los experimentos. Por otro lado, cuando la grasa de la dieta contiene cantidades de ácidos grasos poliinsaturados, sí se encuentra un aumento de los mismos en el plasma de rata (NELSON *et al.*, 1987; HALMINSKI *et al.*, 1991; SCHRIJVER *et al.*, 1992), cerdos (FAIDLEY *et al.*, 1990) y de humanos (HORNSTRA, 1989; SEPPÄNEN-LAAKSO *et al.*, 1992, 1993; WOOD *et al.*, 1993).

A la vista de todos estos resultados podríamos hacer algunas reflexiones: por un lado, acerca de los intercambios y los niveles plasmáticos de todos aquellos ácidos grasos que pueden con cierta facilidad biosintetizarse; y por otro, de los considerados esenciales. De los primeros da la impresión que con independencia de los niveles que se ingieran, tanto cualitativa como cuantitativamente, en un breve periodo de tiempo se alcanza un mismo nivel plasmático para todos ellos: 41% para los saturados y 31% para los monoinsaturados. Luego para los poliinsaturados, no nos queda más que una única posibilidad: el 28%. Por tanto, si hubiera que establecer unas recomendaciones, en primer lugar estas podrían ser bastante laxas y si hubiera que pensar en unas cifras, nosotros consideramos que las más adecuadas serían éstas.

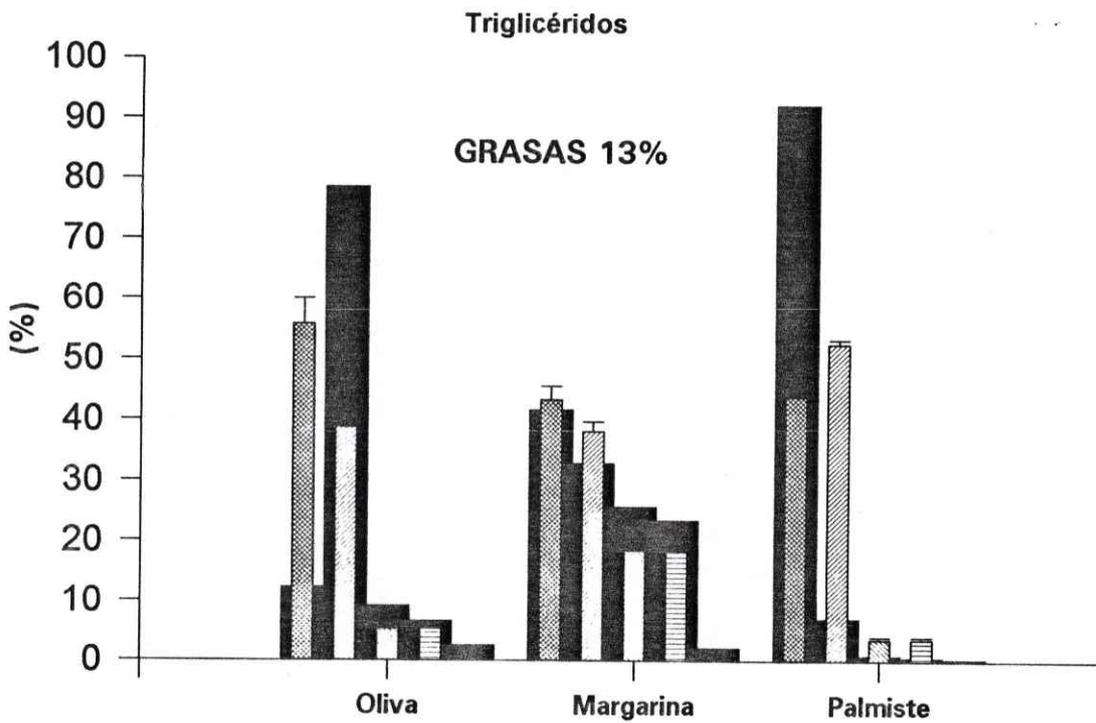
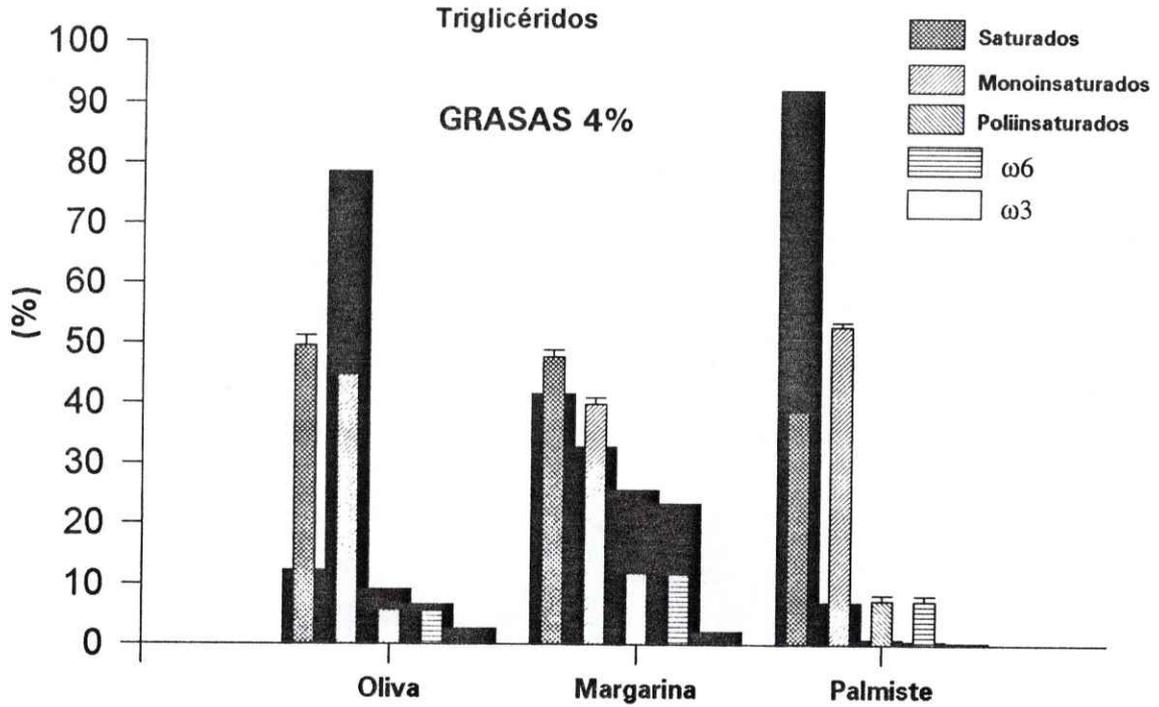
En el caso de los poliinsaturados asumimos lo dicho anteriormente, pero es evidente que sería necesario prolongar por algún tiempo más los experimentos para que se pusieran de manifiesto no solo la aparición de marcadores fisiológicos de las deficiencias en ácidos grasos esenciales, sino que llegaran a disminuir directamente sus valores en el plasma y por tanto establecer con fiabilidad la discusión. Pero salvo en el caso hipotético de que esta situación afectase a los niveles de saturados y monoinsaturados, el resultado no sería diferente del obtenido. Lo que reforzaría sería la relación $\omega 6/\omega 3$, que para nosotros es de 25/2 y no sabemos si se modificará aunque sea de forma somera.

Dado que las explicaciones acerca de las razones por las cuales aparecen unos u otros ácidos grasos en el plasma han sido expuestas al hablar, en este apartado, de los ácidos grasos totales, en los siguientes apartados al hablar de los triglicéridos, fosfolípidos, ácidos grasos libres o ésteres de colesterol, no haremos mención ya a estas explicaciones que resultarían reiterativas y solo llamaremos la atención sobre cualquier carácter diferencial.

En el caso de los triglicéridos (Tabla 34 y Fig. 10) con independencia de las características de la dieta, son dos las familias de ácidos grasos que esterifican



Figura 10. Comparación del perfil de los distintos tipos de ácidos grasos ingeridos, con el hallado en los triglicéridos plasmáticos.



al glicerol, los saturados (palmítico y esteárico) y los monoinsaturados (oleico). En proporciones muy pequeñas lo hacen los poliinsaturados que son siempre $\omega 6$ (el linoleico), y que sucede fundamentalmente y significativamente en el caso de la margarina, siguiendo por tanto al patrón dietético. Como es lógico, no aparecen ácidos grasos $\omega 3$.

Por tanto los triglicéridos transportarán fundamentalmente y a partes iguales ácidos grasos saturados y monoinsaturados. Los fosfolípidos, como es sabido y tal como se puede observar aquí (Tabla 32 y Fig. 11), estarían formados por un ácido grasos saturado (57%) y el otro sería o un poliinsaturado (23%) o un monoinsaturado (20%). En general, serían los responsables de transportar araquidónico, linoleico y docosahexenoico.

Lógicamente, y al igual que sucedía al estudiar otras fracciones, la influencia de la dieta se deja sentir en esta fracción en ratas (GARG *et al.*, 1988; ZEVENBERGEN y HOUSTMULLER, 1989; STEEL *et al.*, 1990) y en humanos (SEPPÄNEN-LAAKSO *et al.*, 1992, 1993), sobre todo en el caso de la margarina, que presenta como consecuencia de la baja ingesta y por las razones anteriormente expuestas, los valores más bajos de monoinsaturados y los más altos de poliinsaturados.

Se ha observado que estas dos fracciones plasmáticas, triglicéridos y fosfolípidos, son modificadas por la dieta (BOUZIANE *et al.*, 1992). De hecho, en ambas fracciones se han propuesto relaciones algebraicas que describen la incorporación de ácidos grasos exógenos en las mismas, e ilustran de la competencia que existe entre ellos y con los de origen endógeno, por esterificarse en un número limitado de lugares de esterificación. Todo ello conduce al mantenimiento de unas proporciones entre las distintas clases de ácidos grasos, dentro de unos límites, en estas dos fracciones de los lípidos del plasma (LANDS *et al.*, 1990, 1992; LANDS, 1991), indicando que todo este proceso está finamente controlado (BRUCKNER, 1992). Los ácidos grasos que esterifican al colesterol son indistintamente representantes de los tres grupos en proporciones muy parecidas, 36% para los poliinsaturados, 33% para los saturados y 31% para los monoinsaturados. El ácido graso mayoritario es el oleico, superado a veces por el araquidónico, que en la rata es esterificado preferentemente en esta fracción (YAMAZAKI y HAMAZAKI, 1991, 1992, GIBSON *et al.*, 1992), ocupando un segundo lugar el palmítico y esteárico y por último el linoleico (Tabla 35 y Fig. 12). Por lo que se puede apreciar, la

Figura 11. Comparación del perfil de los distintos tipos de ácidos grasos ingeridos, con el hallado en los fosfolípidos plasmáticos.

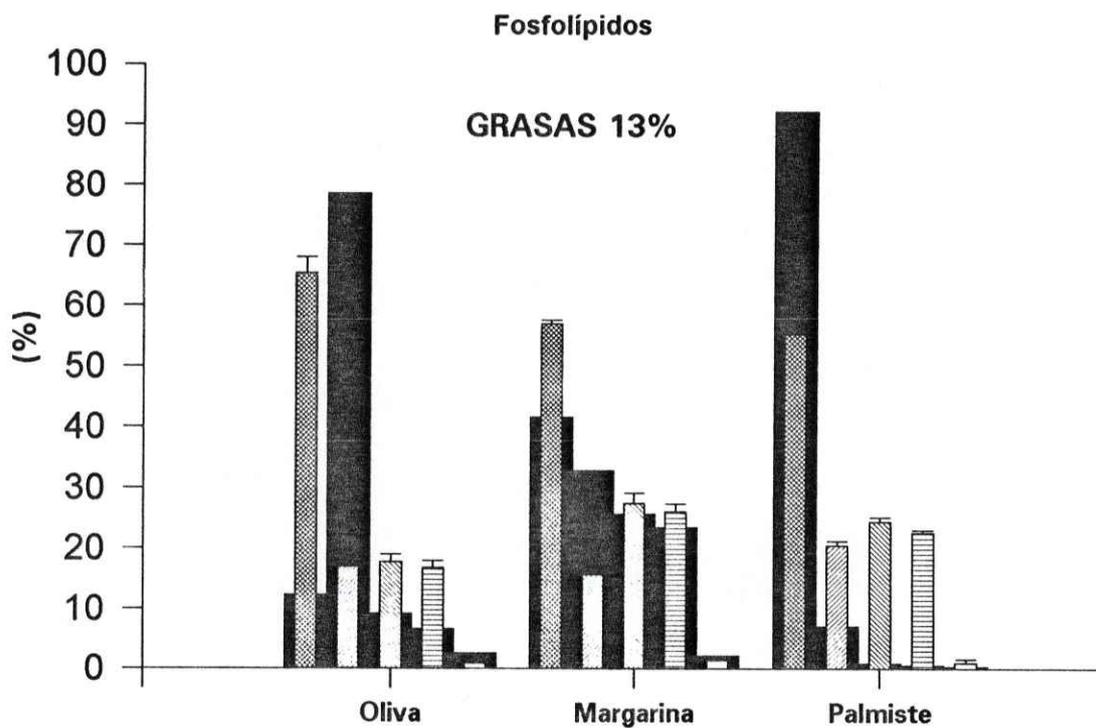
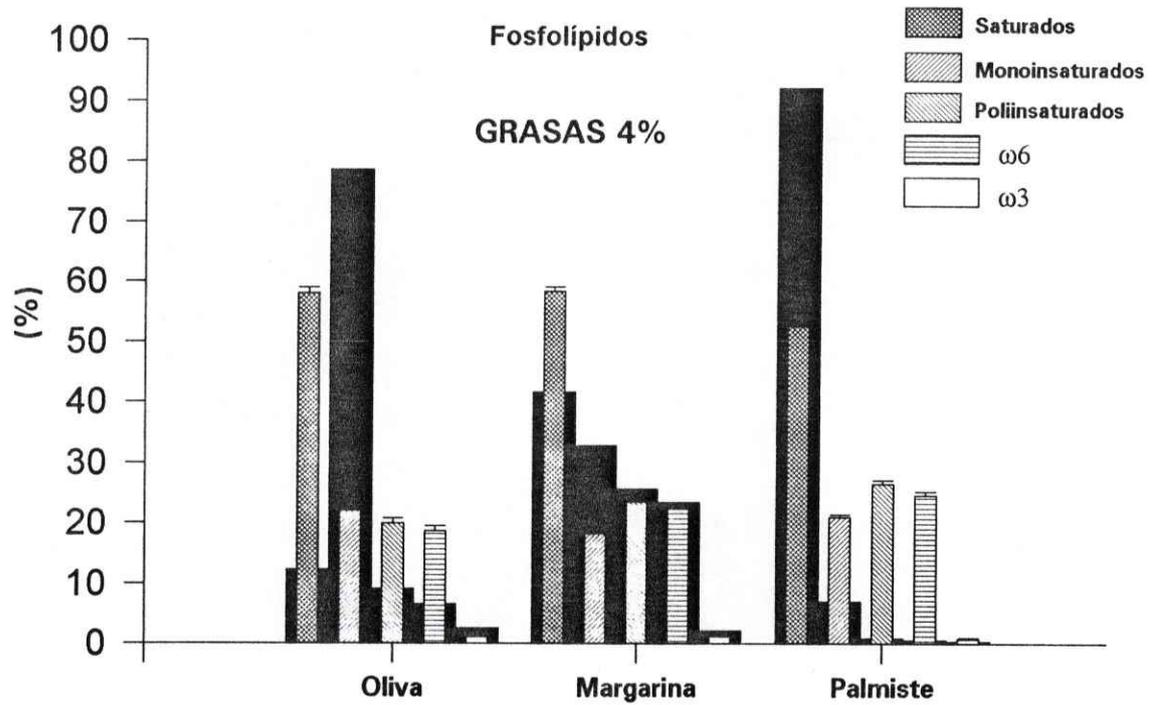
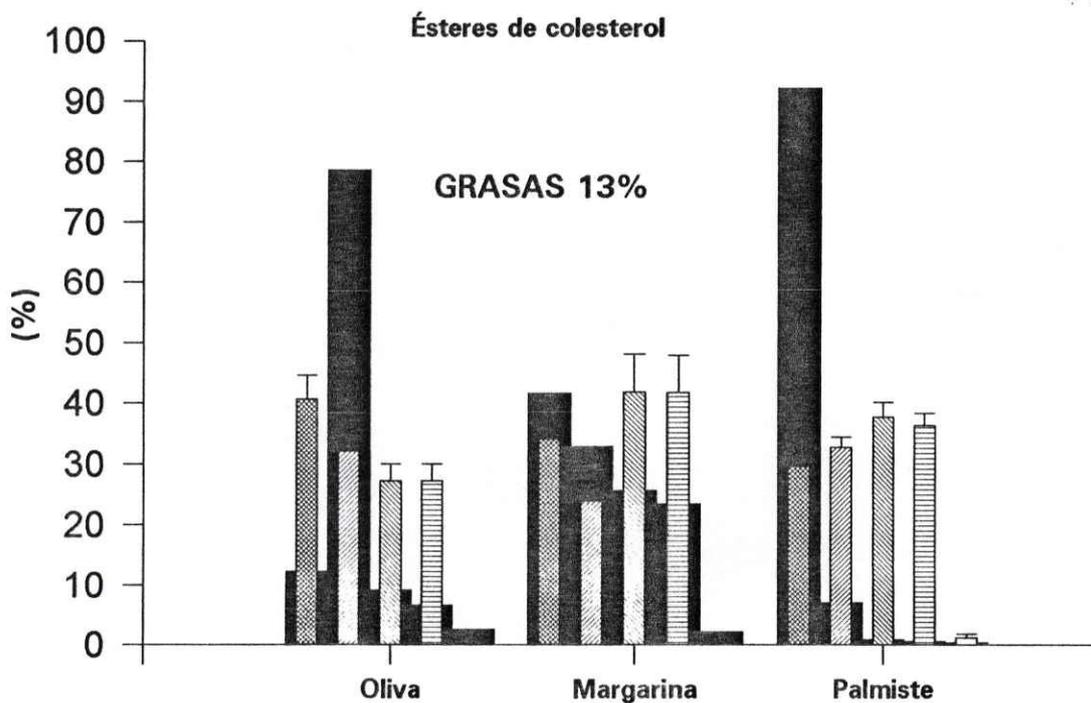
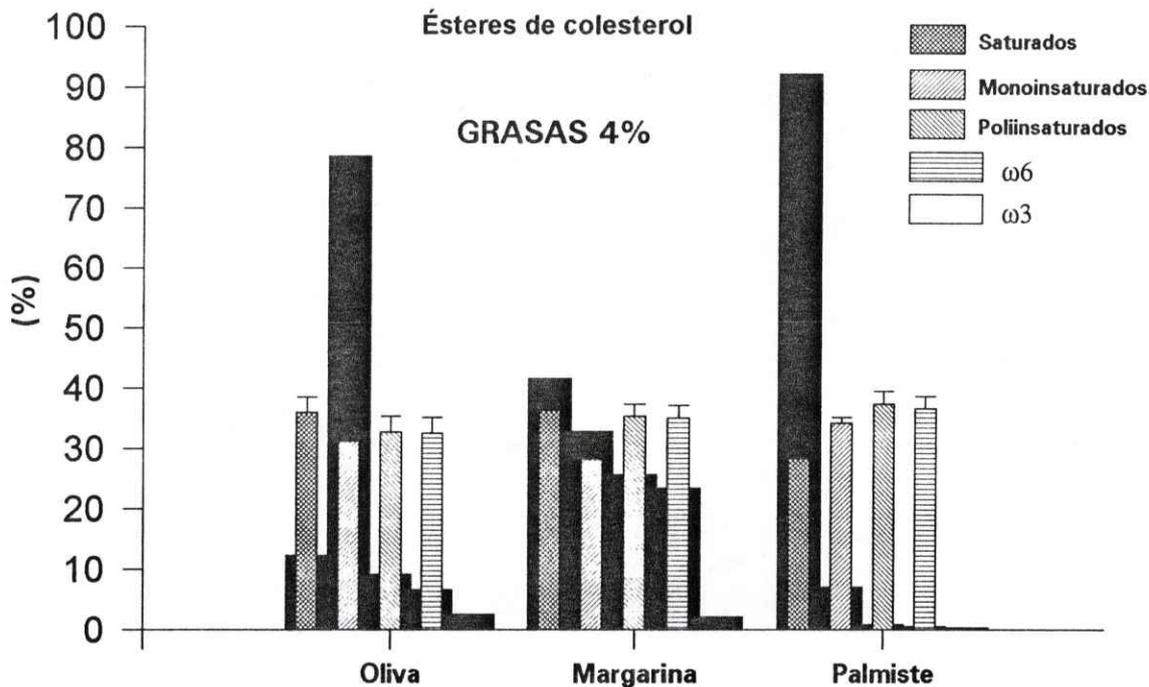


Figura 12. Comparación del perfil de los distintos tipos de ácidos grasos ingeridos, con el hallado en los ésteres de colesterol plasmáticos.



composición de la dieta no repercutió notablemente sobre este proceso y da la impresión que cuando en la dieta es mayoritario el nivel de monoinsaturados, en los ésteres de colesterol, estarían en menor proporción e igualmente ocurre con los saturados en el caso del aceite de palmiste hidrogenado. Sí se observa un aumento de palmitoleico en esta fracción en las ratas alimentadas con la grasa hidrogenada, hecho que coincide con el detectado por otros investigadores cuando provocan deficiencias en ácidos grasos a roedores a nivel plasmático (HUANG *et al.*, 1984) y hepático (HUANG *et al.*, 1991). Cuando en la grasa dietética nada sobresale especialmente, como es el caso de la margarina, la situación es intermedia.

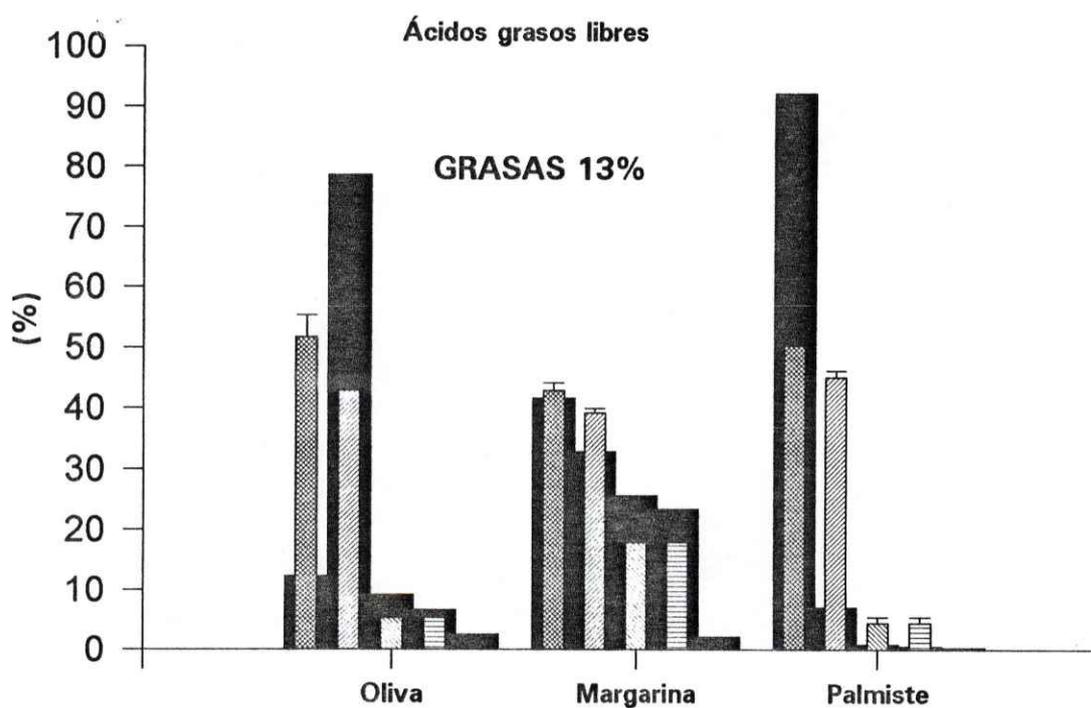
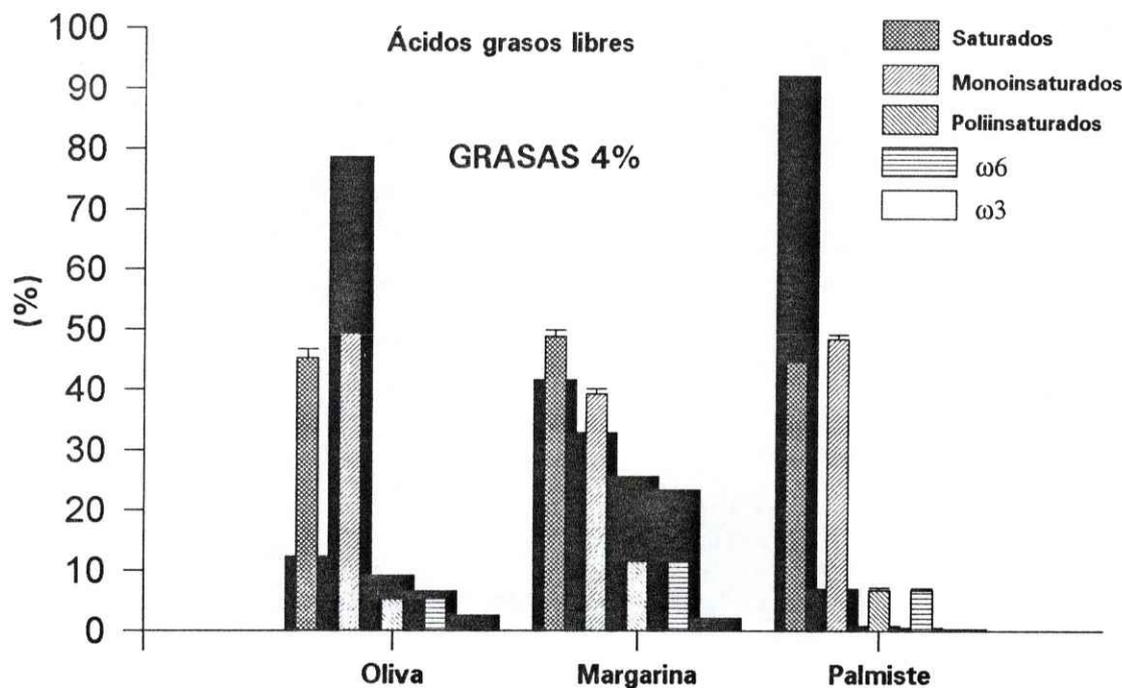
Como sucede en trabajos previos (YAMAZAKI y HAMAZAKI, 1991), los ácidos grasos libres siguen un perfil muy semejante cualitativa y cuantitativamente al de los ácidos grasos que esterifican al glicerol en los triglicéridos, lo cual puede parecer lógico si se piensa que son de los triglicéridos de donde se toman fundamentalmente los ácidos grasos para la resíntesis en el tejido adiposo y en el resto del organismo, por tanto en plasma habrá siempre una fracción de ácidos grasos libres que será muy semejante al de los esterificados (Tabla 33 y Fig. 13).

En general, los cambios estarán motivados por los que afectan a los ácidos grasos totales y dependerá en cada momento del estado de activación de los distintos enzimas hepáticos. Por todo ello es difícil establecer con claridad cuáles son las razones por las que suben o bajan determinados ácidos grasos. Lo que nosotros medimos es la consecuencia final de un conjunto de procesos, como hemos dicho, y por tanto resulta difícil de discernir cuál o cuáles son los que se encuentran implicados en cada situación concreta.

En su conjunto, de nuestros datos parece desprenderse que hay una secuencia de acontecimientos que se relacionan con los ácidos grasos, que están bien establecidos, que parecen incluso hablar de un determinismo genético y que, bien directamente, o indirectamente a través de sistemas enzimáticos o vías metabólicas o vías de regulación, conducen a que los ácidos grasos que conforman el perfil plasmático sean siempre los mismos y en unas concentraciones bastante constantes y sean cuales fuesen las características de la grasa de la dieta, siendo este el principal factor que produce algunas modificaciones importantes en este perfil, pero no de forma definitiva.



Figura 13. Comparación del perfil de los distintos tipos de ácidos grasos ingeridos, con el hallado en los ácidos grasos libres plasmáticos.



6.- CONCLUSIONES

CONCLUSIÓN 1ª. La utilización de grasa fuertemente hidrogenada en la alimentación provoca una disminución de la tasa de crecimiento, posiblemente como consecuencia de los pobres niveles de ácidos grasos poliinsaturados y sobre todo esenciales.

CONCLUSIÓN 2ª. La aparición de síntomas dependientes de administrar dietas con niveles en ácidos grasos esenciales por debajo de las recomendaciones, es muy difícil cuantificar y precisar en el tiempo, ya que como es sabido depende de la historia dietética previa de los animales y por tanto, del estado de sus depósitos en el tejido adiposo y no se ha puesto de manifiesto esta situación en un periodo de hasta tres semanas.

CONCLUSIÓN 3ª. Cuando se utilizan dietas isocalóricas, la modificación del tipo de grasa o el tipo de azúcar, no influye sobre el crecimiento, ni la ingesta, incluso cuando los glúcidos simples alcanzan valores del 30%. Solo en el caso de que el glúcido sea sacarosa se produce una disminución de la ingesta y del crecimiento, poniéndose de manifiesto un efecto negativo no solo a nivel metabólico, sino también del apetito, posiblemente a través de receptores intestinales.

CONCLUSIÓN 4ª. La presencia de aceite de oliva en la dieta provoca la menor acumulación de grasa en el hígado, probablemente debido a una baja captación de ácido oleico por el hígado y/o a una mayor utilización del mismo por los tejidos extrahepáticos.

CONCLUSIÓN 5ª. Dentro del marco de la medicina preventiva, se podría aceptar que pequeños incrementos en los niveles plasmáticos de transaminasas (especialmente ALAT) y fosfatasa alcalina, podrían constituir presunción de daño hepático, provocado por altas ingestas de monosacáridos y/o grasas fuertemente hidrogenadas.

CONCLUSIÓN 6ª. Cuando los animales regulan la ingesta energética, ni el tipo de glúcido, ni el tipo de grasa, ni su proporción en la dieta son capaces de modificar el nivel plasmático de colesterol.

CONCLUSIÓN 7ª. La mayor acumulación de grasa en el hígado es una consecuencia del aumento en la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos a partir de glúcidos, de un impedimento hepático en la formación y/o secreción de lipoproteínas ricas en triglicéridos, y/o de un aumento en el ingreso hepático de ácidos grasos y lipoproteínas desde el compartimento plasmático, y todo ello puede estar desencadenado por los desajustes en los ácidos grasos de las dietas. Este depósito graso aparece preferentemente situado en la zona 1 del acino de Rappaport o zonas periportales del parénquima hepático.

CONCLUSIÓN 8ª. El perfil de los ácidos grasos de las distintas fracciones de los lípidos plasmáticos es muy constante y mayoritariamente representado por tres ácidos grasos, palmítico, esteárico y oleico, con independencia de la composición de la dieta, lo que pone de manifiesto una fina y precisa regulación, aún cuando, por el momento, no sea bien conocida.

CONCLUSIÓN 9ª. Dentro de las funciones de elongación y desaturación, el primer paso que al parecer realiza el hígado consiste en transformar todos los ácidos grasos saturados de la dieta en palmítico y esteárico.

CONCLUSIÓN 10ª. En un corto periodo de tiempo, y con independencia de la ingesta, se alcanza un mismo nivel plasmático para los tres grupos de ácidos grasos, por lo que nos atreveríamos a concluir que los requerimientos deberían estar, en la rata, en el entorno del 41% para los saturados, 31% para los monoinsaturados y 28% para los poliinsaturados.

Para elevar esta conclusión a algo más definitivo sería necesario

prolongar el periodo experimental y establecer la relación entre los $\omega 6$ y $\omega 3$ con mayor precisión.

CONCLUSIÓN GENERAL. Globalmente, nuestros resultados parecen indicar la existencia de una secuencia de acontecimientos que se relacionan con los ácidos grasos, que les confiere una regulación muy precisa y, no solo, no se descarta, sino que parece confirmarse, que en parte esta regulación se produzca a nivel genético y bien directamente o indirectamente (sistemas enzimáticos, vías metabólicas, etc.), los ácidos grasos que conforman el perfil plasmático son muy constantes con independencia de las características de la grasa de la dieta, siendo este el principal factor que produce algunas modificaciones, pero no de forma definitiva.

7.-BIBLIOGRAFÍA

(NRC) National Research Council, (1978). Nutrient requirements of the laboratory rat. En: Nutrient requirements of the laboratory animals. (ed) NRC, edn. 3rd . National Academy of Sciences. pp. 7-37. Washington.

Abrahamsson, H.; Gustafson, A.; Ohlson, R. (1974). Polysaturated fatty acids in hyperlipoproteinemia. I. Influences of a sucrose rich diet on fatty acid composition of serum lipoprotein lipids. *Nutr. Metab.* **17**: 329-337.

Abrashev, N.; Georgiev, P.; Angelov, G.; Ivanov, V. (1987). Changes in the activity of some serum enzymes and other paraclinical indices at the experimental injury of the liver in calves. *Vet. Med. Nauki.* **24**: 46-51.

Achord, J.L. (1988). Nutrition, alcohol and the liver. *Am. J. Gastroenterol.* **83**: 244-248.

Ackroff, K.; Vigorito, M.; Sclafani, A. (1990). Fat appetite in rats: the response of infant and adult rats to nutritive and non-nutritive oil emulsions. *Appetite* **15**: 171-188.

Al-nagdy, S.; Miller, D.S.; Qureshi, R.U.; Yudkin, J. (1966). Metabolic differences between starch and sucrose. *Nat. London* **209**: 81-82.

Al-nagdy, S.; Miller, D.S.; Yudkin, J. (1970). Changes in body composition and metabolism induced by sucrose in the rat. *Nutr. Metab.* **12**: 193-219.

Aliaga, J.; Prieto, J. (1985). Tratamiento de la enfermedad hepática alcohólica. En: Avances en Gastroenterología. (ed) Diaz-Rubio, M. Jarpyio Editores S.A.. pp. 233-240. Madrid.

Allen, R.J.; Leahy, J.S. (1966). Some effects of dietary dextrose, fructose, liquid glucose and sucrose in the adult male rat. *Br. J. Nutr.* **20**: 339-347.

Andersen, B.; Nath, A.; Jungermann, K. (1982). Heterogeneous distribution of phosphoenolpyruvate carboxykinase in rat liver parenchyma, isolated and cultured hepatocytes. *Eur. J. Cell Biol.* **28**: 47-53.

Andersen, B.; Zierz, S.; Jungermann, K. (1983). Perinatal development of the distribution of phosphoenolpyruvate carboxykinase and succinate dehydrogenase in rat liver parenchyme. *Eur. J. Cell Biol.* **30**: 97-101.

Andersen, B.; Zierz, S.; Jungermann, K. (1984). Alteration in zonation of succinate dehydrogenase, phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucose-6-phosphatase in regenerating rat liver. *Histochemistry* **80**: 97-101.

Andreu, F.; Andrade, I.; Roca, F. (1983). Introducción al estudio del enfermo hepatopata. En: *Enfermedades hepáticas. Estado actual de su diagnóstico y tratamiento.* (ed) Andreu, F. pp. 15-21.

ANIMAL CLINICAL CHEMISTRY ASSOCIATION (UK), (1988). Assesment of hepatic function and damage in animal species. *J. Appl. Toxicol.* **8**: 249-254.

Anundi, I.; King, J.; Owens, D. (1987). Total protection from hypoxic liver damage by fructose. *Res. Comm. Chem. Pathol. and Pharmacol.* **55**: 111-116.

Aoyama, Y.; Ashida, K. (1973). Effect of various carbohydrates in a repletion diet after protein depletion on liver lipid content of rats. *J. Nutr.* **103**: 225.

Aoyama, Y.; Ikemaya, G.; Ashida, K. (1975). Effect of glucose and fructose in the protein repletion diet fed after protein depletion on some blood constituents of rats. *Agric. Biol. Chem.* **39**: 2101.

Aoyama, Y.; Izumichi, T.; Sakakibara, H.; Yoshida, A.; Ashida, K. (1975). Effect of glucose and fructose in the protein repletion diet fed after protein depletion on the lipid metabolism in rats. *Nutr. Rep. Int.* **12**: 63.

Aoyama, Y.; Kattori, Y.; Yoshida, A.; Ashida, K. (1980a). Effect of glucose and fructose in a diet or a drinkin water on body weight gain, liver lipid content and serum triglyceride level in four strains of rats. *Nutr. Rep. Int.* **22**: 801-810.

Aoyama, Y.; Kishi, M.; Amano, T.; Yoshida, A.; Ashida, K. (1980b). Effect of dietary glucose and fructose on the rat of lipid synthesis with tritiated water and disappearance of radioactivity of lipids in rats labelled by the administration of (1-14C)acetate. *Nutr. Rep. Int.* **21**: 605.

Aoyama, Y.; Otari, R.; Yoshino, K.; Yoshida, A.; Ashida, K. (1987). Effects of dietary fructose, glucose, fibers and hypolipidemic drugs on serum and liver lipids in rats. *Agric. Biol. Chem.* **51**: 671-681.

Aoyama, Y.; Tsuda, T.; Hitomi Ohmura, E.; Yoshida, A. (1993). Activities of some regulatory enzymes of carbohydrate metabolism in the liver of rats fed a histidine-excess diet. *Comp. Biochem. Physiol. A.* **104**: 381-388.

Aoyama, Y.; Yoshida, A.; Ashida, K. (1974a). Effect of dietary fat and fatty acids on liver lipid accumulation in fasted-refed rats. *Agric. Col. Chem.* **38**: 1791.

Aoyama, Y.; Yoshida, A.; Ashida, K. (1974b). Effect of dietary fats and fatty acids on the liver lipid accumulation induced by feeding a protein repletion diet containing fructose to protein depletion rats. *J. Nutr.* **104**: 791.

Apgar, J.L.; Shively, C.A.; Tarka, S.M. (1987). Digestibility of cocoa butter and corn oil and their influence on fatty acid distribution in rats. *J. Nutr.* **117**: 660-665.

Applewhite, T.H. (1994). Margarine products in health and nutrition. *Health & Nutrition* **5**: 914-921.

Ascherio, A.; Hennekens, C.H.; Buring, J.E.; Master, C.; Stampfer, M.J.; Willett, W.C. (1994). Trans-fatty acids intake and risk of myocardial infarction. *Circulation* **89**: 94-101.

Avidar, Y.; Bogin, E.; Soback, S. (1986). Fatty liver syndrome in farm animals. Biochemical and Pharmacological aspects. *Isr. J. Vet. Med.* **42**: 318-323.

Aviram, M.; Bierman, E.L.; Chait, A. (1988). Modification of low density lipoprotein lipase or hepatic lipase induces enhanced uptake and cholesterol accumulation in cells. *J. Biol. Chem.* **263**: 15416-15422.

Awad, A.B.; Bernardis, L.L.; Fink, C.S. (1990). Failure to demonstrate an effect of dietary fatty acid composition on body weight, body composition and parameters of lipid metabolism in mature rats. *J. Nutr.* **120**: 1277-1282.

Babcock, M.B.; Cardell, R.R. (1974). Hepatic glycogen patterns in fasted and fed rats. *Am. J. Anat.* **140**: 261-302.

Back, D.W.; Angel, J.F. (1982). Effects of premature weaning on the metabolic response to dietary sucrose in adult rats. *J. Nutr.* **112**: 978-985.

Baltzell, J.K.; Wooten, J.T.; Otto, D.A. (1991). Lipoprotein lipase in rats fed oil: apparent relationship to plasma insulin levels. *Lipids* **26**: 289-294.

Baptista, A.; Bianchi, L.; Groote, de J.; Desmet, V.J.; Ishak, K.G. (1988). The diagnostic significance of periportal hepatic necrosis and inflammation. *Histopathology* **12**: 569-579.

Barter, P.J.; Chang, L.B.F.; Jajaran, O.V. (1990). Sodium oleate dissociates the heteroexchange of cholesteryl esters and triacylglycerol between HDL and triacylglycerol-rich lipoproteins. *Biochim. Biophys. Acta* **1047**: 294-297.

- Bartley, J.C.; Abraham, S. (1972).** Dietary regulations of fatty acid synthesis in rat liver and hepatic autotransplants. *Biochim. Biophys. Acta* **260**: 169-177.
- Basilico, M.Z.; Gutman, R.; Yommi, M.R.; Francone, O.; Lombardo, Y.B. (1983).** Post-heparin plasma hepatic triglyceride lipase and monoglyceride hydrolase activities in hyperlipemia induced by sucrose rich diet. *Biomed. Pharmacother.* **37**: 36.
- Bastian, H.; Jungermann, K. (1987).** Regulation von syntheseund abbaurate der phosphoenolpyruvat-carboxykinase durch physiologische O₂-konzentrationen während und nach glucagon-induktion in primärkulturen von rattenhepatoyten. *Z. Gastroenterol.* **25**: 67.
- Battles, A.H.; Knapka, J.T.; Lewis, L.; Lang, M.T.; Gruendel, J. (1991a).** High-moisture diet for laboratory rats: nutrient analysis, growth, and organ weights. *Lab. Animal Sci.* **41**: 237-241.
- Battles, A.H.; Knapka, J.T.; Stevens, B.R.; Lewis, L.; Lang, M.T.; Gruendel, J. (1991b).** High-moisture diet for laboratory rats: complete blood counts, serum biochemical values, and intestinal enzyme activity. *Lab. Animal Sci.* **41**: 242-245.
- Bekbölet, M. (1990).** Light effects on food. *J. Food Prot.* **53(5)**: 430-440.
- Belahsen, R.; Deshaies, Y. (1993).** Alpha-1 adrenergic blockade interacts with dietary carbohydrates on triacylglycerol metabolism in rats. *J. Nutr.* **123**: 520-528.
- Bender, A.E.; Damji, K.B.; Khan, M.A.; McGregor, L.; Yudkin, J. (1972).** Sucrose induction of hepatic hyperplasia in the rat. *Nature* **238**: 461.
- Berdanier, C.D. (1974).** Metabolic characteristics of the carbohydrate-sensitive BHE strain of rats. *J. Nutr.* **104**: 1246-1256.
- Berdanier, C.D. (1992).** Fatty acids and membrane function. En: fatty acids in foods and their health implications. (ed) Chow, C.K. edn. 1st . Marcel Dekker Inc.. pp. 531-544. Nueva York.
- Berezkin, M.V.; Gratinskii, Y.N.; Kudinova, V.F.; Chusovkova, .S. (1987).** Seasonal and circadian variations of biochemical blood indices in mice. *Byull. Eksp. Biol. Med.* **104**: 646-649.
- Bergeron, N.; Deshaies, Y.; Lavigne, C.; Jacques, H. (1991).** Interaction between dietary proteins and lipids in the regulation of serum and liver lipids in the rabbit. Effects of fish protein. *Lipids* **26**: 759-764.

Bergmeyer, H.U. (1974). Methods of enzymatic analysis. 3^a ed. Verlag Chemie. Deerfield Beach, Florida.

Bergmeyer, H.U. (1986). . *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **24**: 497.

Bergstra, A.E.; Lemmens, A.G.; Beynen, A.C. (1993). Dietary fructose vs. glucose stimulates nephrocalcinogenesis in female rats. *J. Nutr.* **123**: 1320-1327.

Bernert, J.T.; Sprecher, H. (1975). Studies to determine the role rates of chain elongation and desaturation play in regulating the unsaturated fatty acid composition of rat liver lipids. *Biochim. Biophys. Acta* **398**: 354-363.

Beyers, E.C.; Emken, E.A. (1991). Metabolites of cis,trans, and trans,cis isomers of linoleic acid in mice and incorporation into tissue lipids. *Biochim. Biophys. Acta* **1082**: 275-284.

Beynen, A.C. (1987). Serum and liver cholesterol in rats fed cholesterol-free or high-cholesterol diets differing in type and amount of fat. *Nutr. Rep. Int.* **35**: 1327-1332.

Beynen, A.C. (1988). Dietary monounsaturated fatty acids and liver cholesterol. *Artery* **15**: 170-175.

Beynen, A.C.; Katan, M.B. (1989). Impact dietary cholesterol and fatty acids on serum lipids and lipoproteins in man. En: *The role of fats in human nutrition.* (eds) Vergroesen, A.J.; Crawford, M. edn. 2 . Academic Press. pp. 237-276.

Beynen, A.C.; Lemmens, A.G. (1987). Type of carbohydrate and liver cholesterol in rats. *Z. Ernährungswiss* **26**: 158-160.

Bhathena, S.J. (1992). Fatty acids and diabetes. En: *Fatty acids in foods and their health implications.* (ed) Chow, C.K. Marcel Dekker, Inc.. pp. 823-856. Nueva York.

Biagi, P.L.; Bordoni, A.; Hrelia, S.; Celadon, M.; Horrobin, D.F. (1991). Gamma-linolenic acid dietary supplementation can reverse the aging influence on rat liver microsome delta-6-desaturase activity. *Biochim. Biophys. Acta* **1083**: 187-192.

Bierman, E.L. (1979). . *Am. J. Clin. Nutr.* **32**: 2712.

Bittner, R.; Böhme, H.J.; Didt, L.; Goltzsch, W.; Hofmann, E.; Levin, M.J.; Sparmann, G. (1979). Developmental change in the levels of hepatic enzymes in their relation to metabolic

functions. *Adv. Enzyme Reg.* **17**: 37-57.

Bjorkman, O.; Felig, P. (1982). Role of the kidney in the metabolism of fructose in 60 hour fasted humans. *Diabetes* **31**: 516-520.

Blake, W.L.; Clarke, S.D. (1990). Suppression of rat hepatic fatty acid synthase and S14 gene transcription by dietary polyunsaturated fat. *J. Nutr.* **120**: 1727-1729.

Blake, W.L.; Salatti, L.M.; Clarke, S.D.; Wilson, M.D. (1990). Potency of polyunsaturated and saturated fats as short-term inhibitors of hepatic lipogenesis in rats. *J. Nutr.* **120**: 544-552.

Blond, J.P.; Bezard, J. (1991). Delta-5-desaturation of dihomogammalinolenic acid (20:3(n-6)) into araquidonic acid (20:4(n-6)) by rat liver microsomes and incorporation of fatty acids in microsome phospholipids. *Biochim. Biophys. Acta* **1084**: 255-260.

Bloom, W.; Fawcett, D.W. (1987). El hígado y la vesícula biliar. En: Tratado de histología. (eds) Fawcett, D.W.; Bloom, W. edn. 11 . McGraw-Hill. pp. 683-720.

Bogin, E.; Avidar, J.; Rivetz, B.; Israeli, B. (1978). Fatty liver in fattened geese: enzyme profile of liver and serum. *Zbl. Vet. Med.* **25**: 727-733.

Bogin, E.; Avidar, Y.; Merom, M. (1986). Biochemical changes in liver and blood during liver fattening in rats. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **24**: 621-626.

Bogin, E.; Avidar, Y.; Merom, M.; Israeli, B.; Malkinson, M.; Soback, S.; Kudler, Y. (1984). Biochemical changes associated with fatty liver in geese. *Avian. Pathol.* **13**: 683-701.

Bolant, B.; Calvo, M.A.; Cejalvo, D.; Gimeno, L.; Gimeno, O.; Lloris, J.M. (1989). Hematología y bioquímica clínica de la rata. Parte 1. *Res. in Surg.* **3**: 29-36.

Bolant, B.; Calvo, M.A.; Cejalvo, D.; Gimeno, L.; Gimeno, O.; Lloris, J.M. (1990). Hematología y bioquímica clínica de la rata. Parte 2. *Res. in Surg.* **4**: 12-20.

Bonaga, G.; Trizzino, M.G.; Pasquariello, M.A.; Biagi, P.L. (1980). Nutritional aspects of trans fatty acids. Note I. Their accumulation in tissue lipids of rats fed with normolipidic diets containing margarine. *Biochem. Exp. Biol.* **XVI**: 51-54.

Bonanome, A.; Grundy, S.M. (1988). Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N. Engl. J. Med.* **318**: 1244-1248.

- Booth, D.A. (1992).** Integration of internal and external signals in intake control. *Proc. Nutr. Soc.* **51**: 21-28.
- Bordoni, A.; Biagi, P.L.; Turchetto, E.; Hrelia, S. (1988).** Aging influence on delta-6-desaturase activity and fatty acid composition of rat liver microsomes. *Biochem. Int.* **17**: 1001-1009.
- Bourre, J-M.; Bonneil, M.; Dumont, O.; Piciotti, M. (1990b).** Effects of increasing amounts of dietary fish oil on brain and liver fatty composition. *Biochim. Biophys. Acta* **1043**: 149-152.
- Bourre, J-M.; Dumont, O.; Pascal, G.; Durand, G. (1993).** Dietary alfa-linoleic acid at 1.3 g/kg maintains maximal docosahexaenoic acid concentration in brain, heart and liver of adult rats. *J. Nutr.* **123**: 1313-1319.
- Bourre, J-M.; Francois, M.; Youtou, A.; Dumont, O.; Piciotti, M.; Pascal, G.; Durand, G. (1989).** The effects of dietary alfa-linoleic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiological parameters, resistance to poisons and performance of learning tasks in rats. *J. Nutr.* **119**: 1880-1892.
- Bourre, J-M.; Piciotti, M.; Dumont, O. (1990c).** Delta-6-desaturase in brain and liver during development and aging. *Lipids* **25**: 354-356.
- Bourre, J-M.; Piciotti, M.; Dumont, O.; Pascal, G.; Durand, G. (1990a).** Dietary linoleic acid and polyunsaturated fatty acids in rat brain and other organs. Minimal requirements of linoleic acid. *Lipids* **25**: 465-472.
- Bouziane, M.; Prost, J.; Belleville, J. (1992).** Changes in serum and lipoprotein fatty acid of growing rats fed protein-deficient diets with low or adequate linoleic acid concentrations. *J. Nutr.* **122**: 2037-2046.
- Braun, J.E.A.; Severson, D.L. (1992).** Regulation of the synthesis, processing and translocation of lipoprotein lipase. *Biochem. J.* **287**: 337-347.
- Brenner, G.M.; Koo, S.I. (1988).** Estradiol-induced increase in serum HGH-density lipoprotein cholesterol and its relationship with zinc and copper status in ovariectomized rats. *Horm. Metabol. Res.* **20**: 597-599.
- Brenner, R.R. (1989).** Factors influencing fatty acid chain elongation and desaturation. En: *The role of fats in human nutrition.* (ed) Vergoensen, A.J. edn. 2. Academic Press. pp. 46-79.

Brensike, J.F.; Levy, R.I.; Kelsey, S.F. (1984). Effects of therapy with cholestamine on progression of coronary arteriosclerosis: Results of the NHLBI type II coronary intervention study. *Circulation* **69**: 313-324.

Bruckdorfer, K.R.; Khan, I.H.; Yudkin, J. (1972). Fatty acid synthetase activity in the liver and adipose tissue of rats with various carbohydrates. *Biochem. J.* **129**: 439-446.

Bruckert, E.; Nguyen, M. (1993). La lipoprotéine (a): un nouveau facteur de risque cardiovasculaire. *Cah. Nutr. Diét XXVIII*: 151-156.

Bruckner, G. (1992a). Fatty acids and cardiovascular diseases. En: *Fatty acids in foods and their health implications.* (ed) Chow, C.K. edn. 1 . Marcel Dekker. pp. 735-752. Nueva York.

Bruckner, G. (1992b). Biological effects of polyunsaturated fatty acids. En: *Fatty acids in foods and their health implications.* (ed) Chow, C.K. edn. 1 . Marcel Dekker. pp. 631-646. New York.

Buchman, A.L.; Dubin, M.; Jenden, D.; Muukarzel, A.; Roch, M.H.; Rice, K.; Gornbein, J.; Ament, M.E.; Eckhert, C.D. (1992). Lecithin increases plasma free choline and decreases hepatic steatosis in long-term total parenteral nutrition patients. *Gastroenterol.* **120**: 1363-1370.

Bue, J.; Berdanier, C.D. (1987). Effect of antecedent diet on the responses of BHE rats to starvation-refeeding. *Nutr. Rep. Int.* **35**: 791-799.

Bueno, J.; Barrao, F.; Ceña, G.; Gimenez, A.; Oscariz, J. (1982). Algunos aspectos de la valoración enzimática en las hepatopatías crónicas. En: *Actualizaciones en medicina digestiva y metabólica.* (eds) Pajares, J.M.; Ruiz, A. Antibiótico S.A.. pp. 185-201. Madrid.

Caderni, G.; Dolara, P.; Spagnesi, T.; Luceri, C.; Bianchini, F.; Mastrandrea, V.; Morozzi, G. (1993). Rats fed high starch diets have lower colonic proliferation and fecal bile acids than high sucrose-fed controls. *J. Nutr.* **123**: 704-712.

Carlson, C.A.; Boettinger, E. (1972). Ischemic heart disease in relation to fasting values of plasma triglyceride and cholesterol. *Lancet* **1**: 865-868.

Carmena, R.; Ascaso, J.F.; Azpeitia, J.G.; Bonjers, G.; Camejo, G.; Hurt, E.; Martínez, J.F.; Mata, P.; Mancini, M.; Nuño, J.; Oya, M.; Pucillo, P.; Rey, C.; Rubies, J.; Rubio, M.J.; Serrano, S.; Soler, C. (1990). Hiperlipoproteinemias. Clínica y tratamiento. 2ª ed. Doyma.

Carmona, A.; Freedland, R.A. (1989). Comparison among the lipogenic potential of various substrates in rat hepatocytes: the differential effects of fructose-containing diets on hepatic lipogenesis. *J. Nutr.* **119**: 1304-1310.

Castellani, L.W.; Wilcox, H.C.; Heimberg, M. (1991). Relationships between fatty acid synthesis and lipid secretion in the isolated perfused rat liver: effects of hyperthyroidism, glucose and oleate. *Biochim. Biophys. Acta* **1086**: 197-208.

Castelli, W.P.; Doyle, T.; Gordon, T.; Hames, G.; Hjortland, M.S.; Hulley, B.; Kagan, A. (1977). HDL-cholesterol and other lipids in coronary heart disease: the cooperative lipoprotein phenotyping study. *Circulation* **55**: 767-772.

Castonguay, .W.; Hisch, E. (1981). Palatability of sugar solutions and dietary selection. *Physiol. Behav.* **27**: 7-12.

Chanez, M.; Bois Joyeux, B.; Arnaud, M.J.; Peret, J. (1988). long-term feeding a diet with a moderate medium-chain triglycerides content have not an inhibitory effect on the activity of enzymes involved in hepatic lipogenesis in the rat. *C. R. Acad. Sci.* **307**: 685-688.

Chanez, M.; Bois Joyeux, B.; Arnaud, M.J.; Peret, J. (1991). Metabolic effects in rats of a diet with a moderate level of medium-chain triglycerides. *J. Nutr.* **121**: 585-594.

Chang, N.W.; Huang, P.C. (1990). Effects of dietary monounsaturated fatty acids on plasma lipids in humans. *J. Lipid Res.* **31**: 2141-2147.

Chao, F.; Stiers, D.L.; Ontko, J.A. (1986). Hepatocellular triglyceride synthesis and transfer to lipid droplets and nascent very low density lipoproteins. *J. Lipid Res.* **27**: 1174-1181.

Chapkin, R.S. (1992). Reappraisal of the essential fatty acids. En: *Fatty acids in foods and thier health implications.* (ed) Chow, C.K. edn. 1 . Marcel Dekker. pp. 473-500. Nueva York.

Chapman, M.J. (1994). Biochimie et physiopathologie de la lipoprotéine(a). Relations avec la nutrition. *Cah. Nutr. Diét* **XXIX**: 151-157.

CHARLES RIVER LABORATORIES, (1982). Technical Bulletin. 1st ed.

Chatzipanagiotou, S.; Nath, A.; Vogt, B.; Jungermann, K. (1985). Alteration in the capacities as well as in the zonal and cellular distributions of pyruvate kinase L and M2 in regenerating rat liver. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **336**: 271-280.

- Chautan, M.; Chanussot, F.; Portugal, H.; Pauli, A.; Lafont, H. (1990).** Effects of salmon oil and corn oil level on plasma lipid level and hepato-biliary cholesterol metabolism in rats. *Biochim. Biophys. Acta* **1046**: 40-45.
- Chautan, M.; Charbonnier, M.; Léonardi, L.; André, M.; Lafont, H.; Nalbone, G. (1991).** Modulation of lipid chylomicron-synthesizing enzymes in rats by the dietary (n-6):(n-3) fatty acids ratio. *J. Nutr.* **121**: 1305-1310.
- Cheeseman, C.I.; Harley, B. (1991).** Adaptation of glucose transport across rat enterocyte basolateral membrane in response to altered dietary carbohydrate intake. *J. Physiol.* **437**: 563-575.
- Chen, .C. (1979).** Feeding free fatty acids to study lipid metabolism in rats. *J. Nutr.* **109**: 39-47.
- Chen, S.; Katz, N. (1988).** Zonation of glycogen and glucose syntheses, but not glycolysis, in rat liver. *Biochem. J.* **255**: 99-104.
- Chin, S.F.; Storkson, J.M.; Ha, Y.L.; Pariza, M.W. (1992).** Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food. Sci.* **5**: 185-197.
- Cho, Y.-J.; Ide, T.; Sugano, M. (1986).** Dietary manipulation of the disappearance of trans-octadecenoates in the rat tissues. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **32**: 497-506.
- Choi, Y.-S.; Goto, S.; Ikeda, I.; Sugano, M. (1989).** Interaction of dietary protein, cholesterol and age on lipid metabolism of the rat. *Br. J. Nutr.* **61**: 531-543.
- Choi, Y.; Ide, T.; Sugano, M. (1987).** Age-related changes in the regulation of cholesterol metabolism in rats. *Exp. Gerontol.* **22**: 339-349.
- Choi, Y.; Sugano, M.; Ide, T. (1988).** Sex-difference in the age related change of cholesterol metabolism in rats. *Mechan. Age. Develop.* **44**: 91-99.
- Christensen, E.; Hagve, T.; Gronn, M.; Christophersen, B.O. (1989).** β -oxidation of medium chain (C8-C14) fatty acids studied in isolated liver cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1004**: 187-195.
- Christiansen, E.N.; Lund, J.S.; Rotveit, T.; Rustan, A.C. (1991).** Effects of dietary n-3 and n-6 fatty acids on fatty acid desaturation in liver rat. *Biochim. Biophys. Acta* **1082**: 57-62.
- Christiansen, E.N.; Thomassen, M.S.; Christiansen, R.Z.; Osmundsen, H.; Norum, K.R (1979).** Metabolism of erucic acid in perfused rat liver: Increased chain shortening after feeding

partially hydrogenated marine oil and rapeseed oil. *Lipids* **14**: 829-835.

Claeysens, S.; Lavoinne, A.; Fresel Ragot, M.; Bois Joyeux, B.; Chanez, M.; Peret, J. (1990). Metabolic changes in rats fed a low protein diet during post-weaning growth. *Metabolism* **39**: 676-681.

Clarke, S.D.; Armstrong, M.K.; Jump, D.B. (1990). Nutritional control of rat liver fatty acid synthase and S14 mRNA abundance. *J. Nutr.* **120**: 218-224.

Clement, M.; Bourre, J-M. (1990). Alteration of Alfa-tocopherol content in the developing and aging peripheral nervous system: persistence of high correlations with total and specific (n-6) polyunsaturated fatty acids. *J. Neurochem.* **54**: 2110-2117.

Coates, M.E. (1976). The nutrition of laboratory animals. En: The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals. (ed) UFAW, edn. 5 . Churchill-Livingstone. pp. 27-48.

Cohen, .M.; Teitelbaum, (1966). Effect of different levels of protein in sucrose and starch diets on the glucose tolerance and growth. *Metabolism* **15**: 1034-1038.

Cohen, .M.; Teitelbaum, . (1964). Effect of dietary sucrose and starch on oral glucose tolerance and insuline like activity. *Am. J. Physiol.* **206**: 105-108.

Cohen, .M.; Teitelbaum, .; Cohen, . (1970). Effect of glucose, fructose, sucrose and starch on nitrogen utilization in rats fed high and low protein diets. *Is. J. Med. Sc.* **6**: 86-89.

Cohen, J.; Schall, R. (1988). Reassessing the effects of simple carbohydrates on the serum triglyceride responses to fat meals. *Am. J. Clin. Nutr.* **48**: 1031-1034.

Conde Martel, A.; Gonzalez Reimers, E.; Santolaria Fernandez, F.; Castro Aleman, V.; Galindo Martín, L.; Rodriguez Moreno, F.; Martinez Riera, A. (1992). Combined effects of ethanol and protein deficiency on hepatic iron, zinc, manganese, and copper contents. *Alcohol.* **9**: 341-348.

Conde Martel, A.; Gonzalez Reimers, E.; Santolaria Fernandez, F.; Castro Aleman, V.; Marchena Gomez, J.; Martinez Riera, A. (1993). Liver changes in protein malnutrition. An experimental study in rats. *Nutr. Hosp.* **8**: 358-363.

Conlee, R.K.; Lawler, R.M.; Ross, P.E. (1987). Effects of glucose or fructose feeding on glycogen repletion in muscle and liver after exercise or fasting. *Ann. Nutr. Metab.* **31**: 126-132.

Connor, S.L.; Artaud-Wild, S.M.; ClassicK-Kohn, C.J.; Gustafson, J.R. (1986). El índice colesterol/grasas saturadas: un indicador del potencial hipercolesteremiante y aterogénico de los alimentos. *Lancet (ed esp.)* 9: 251-255.

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

Cook, H.W.; Emken, E.A. (1990). Geometric and positional fatty acid isomers interact differently with desaturation and elongation of linoleic and linolenic acids in cultured glioma cells. *Biochem. Cell. Biol.* 68: 653-660.

Craig-Schmidt, M (1992). Fatty acid isomers in foods. En: Fatty acids in foods and their health implications. (ed) Chow, C.K. edn. 1. Marcel Dekker, Inc.. pp. 363-398. Nueva York.

Crouzoulon, G.; Korieh, A. (1991). Fructose transport by rat intestinal brush border membrane vesicles. Effect of high fructose diet followed by return to standard diet. *Comp. Biochem. Physiol.* 100A: 175-182.

Cryer, A.; Riley, .E.; Williams, .R.; Robinson, .S. (1974). Effect of fructose, sucrose and glucose feeding on plasma insulin concentrations and on adipose-tissue clearing-factor lipase activity in the rat. *Biochem. J.* 140: 561-563.

Da Silva, L.A.; De Marcucci, O.L.; Kuhnle, Z.R. (1993). Dietary polyunsaturated fats suppress the high-sucrose-induced increase of rat liver pyruvate dehydrogenase levels. *Biochim. Biophys. Acta* 1169: 126-134.

Daggy, B.; Arost, C.; Bensadoun, A. (1987). Dietary fish oil decreases VLDL production rates. *Biochim. Biophys. Acta* 920: 293-300.

Dagnelie, P.C.; Rietveld, T.; Swart, R.; Stijnen, T.; Van den Berg, J.W.O. (1994). Effect of dietary fish oil on blood levels of free fatty acids, ketone bodies and triacylglycerol in humans. *Lipids* 29: 41-45.

Dannenberg, A.J.; Zakim, D. (1992). Dietary lipid regulates the amount and functional state of UDP-Glucuronosyltransferase in rat liver. *J. Nutr.* 122: 1607-1613.

Davis, J.W.; Vanden Heuvel, J.P.; Peterson, R.E. (1991). Effects of perfluorodecanoic acid on de novo fatty acid and cholesterol synthesis in the rat. *Lipids* 26: 857-859.

Davis, R.A. (1988). Hepatic lipoprotein and cholesterol metabolism. *J. Lipid Res.* 29: 825-832.

Davy, C.; Brock, A.; Walker, J.M.; Eichler, D.A. (1988). Tissue activities of enzymes of diagnostic interest in the marmoset and rat. *J. Comp. Pathol.* **99**: 41-54.

De la Morena, E.J.; Gonzalez, J.E. (1989). Afectación del hígado en enfermedades infiltrativas y metabólicas. Infecciones del hígado no virales. En: Medicina Interna en el paciente geriátrico. (ed) Martín, F. edn. 2. Saned. pp. X/228-X/237. Madrid.

De Schrijver, R.; Vermeulen, D.; Backx, S. (1991). Digestion and absorption of free and esterified fish oil fatty acids in rats. *Lipids* **26**: 400-404.

De Schrijver, R.; Vermeulen, D.; Daems, V. (1992). Dose-response relationships between dietary (n-3) fatty acids and plasma and tissue lipids, steroid excretion and urinary malondialdehyde in rats. *J. Nutr.* **122**: 1979-1987.

De Schrijver, R.; Vermeulen, D.; Viaene, E. (1991). Lipid metabolism responses in rats fed beef tallow, native or randomized fish oil and native or randomized peanut oil. *J. Nutr.* **121**: 948-955.

De Witt, D.L. (1991). Prostaglandin endoperoxide synthase: Regulation of enzyme expression. *Biochim. Biophys. Acta* **1083**: 121-134.

Decker, K.; Jungermann, K. (1970). Energy production in anaerobic organisms. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* **9**: 138-158.

Deckere, de E.A.M.; Kloots, W.J.; Bommel, van C.J. (1993). Hepatic de novo fatty acid synthesis in the rat. *Ann. Nutr. Metab.* **37**: 192-198.

Decsi, T.; Koletzko, B. (1994). Polyunsaturated fatty acids in infant nutrition. *Acta Paediatr.* **395**: 31-37.

Derr, J.; Kris-etherton, P.M.; Pearson, T.A.; Seligson, H. (1993). The role of fatty acid saturation on plasma lipids, lipoproteins, and apolipoproteins:II. The plasma total and low-density lipoprotein cholesterol response of individual fatty acids. *Metabolism* **42**: 130-134.

Deshaies, Y. (1986). Plasma lipoprotein cholesterol and triglycerides and lipoprotein lipase activity in epididymal white adipose tissue of rats fed high sucrose or high corn oil diets. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **64**: 885-891.

Deshaies, Y.; Belahsen, R. (1993). Postprandial plasma triacylglycerols in rats under alpha 1-adrenergic blockade. *Am. J. Physiol.* **264**: E541-E547.

- Deshaies, Y.; Boiteau, L.; Savard, R.; Bukowiecki, J.L. (1984).** Serum lipoproteins, glucose tolerance, and lipoprotein lipase activity in adipose tissue of rats fed sucrose or corn oil. *Nutr. Rep. Int.* **29**: 1437-1448.
- Deshaies, Y.; Vallerand, A.L.; Bukowiecki, C.J. (1983).** Serum lipids and cholesterol distribution in lipoproteins of exercise-trained female rats fed sucrose. *Life Sci.* **33**: 75-82.
- Dietschy, J.M.; Turley, S.D.; Spady, D.K. (1993).** Role of liver in the maintenance of cholesterol and low density lipoprotein homeostasis in different animal species, including humans. *J. Lipid Res.* **34**: 1637-1659.
- Doormal, van J.J.; Muskiet, F.A.J.; Martini, I.A.; Doorenbos, H. (1987).** Rapid changes in serum, plasma and erythrocyte lipid compositions, and serum transaminase levels during continuous enteral hyperalimentation by carbohydrates alone. *Metabolism* **36**: 1132-1140.
- Doolittle, D.J.; Muller, G.; Scribner, H.E. (1987).** Relation between hepatotoxicity and induction of replicative DNA synthesis following single or multiple doses of carbon tetrachloride. *J. Toxicol. Environ. Health* **36**: 1132-1140.
- Drucker, D.B.; Ackroff, K.; Sclafani, A. (1993).** Flavor preference produced by intragastric polyose infusions in rats using a concurrent conditioning procedure. *Physiol. Behav.* **54**: 351-355.
- Druckrey, F.; Holmer, G. (1985).** Fatty acid composition of danish margarines. *Fette Seifen Anstrichm.* **87**: 350-355.
- Duerden, J.M.; Gibbons, G.F. (1990).** Storage, mobilization and secretion of cytosolic triacylglycerol in hepatocyte cultures. *Biochem. J.* **272**: 583-587.
- Dupont, J.; White, P.J.; Feldman, E.B. (1991).** Saturated and hydrogenated fats in food relation to health. *J. Am. Coll. Nutr.* **6**: 577-592.
- Dámour, F.E.; Blood, F.R.; Belden, D.A. (1965).** Manual for laboratory work in mammalian physiology. 2^a ed. University of Chicago Press. Chicago.
- Edwards-Webb, J.D.; Sambrook, I.E.; Welch, V.A.; Gurr, M.I. (1988).** Effects of isomeric fatty acids on essential fatty acid metabolism in the rat. *Proc. Nutr. Soc.* **47**: 86A.
- Einarsson, K.; Akerlund, J-E.; Björkhem, I. (1987).** The pool of free cholesterol is not of major importance for regulation of the cholesterol 7 α -hydroxylase activity in rat liver

microsomes. *J. Lipid Res.* **28**: 253-256.

Eisenberg, S. (1984). High density lipoprotein metabolism. *J. Lipid Res.* **25**: 1017-1058.

Ellwood, K.C.; Failla, M.L.; Reiser, S. (1991). Lipoprotein status in Sprague-Dawley and LA/N-corpulent rats as affected by dietary carbohydrates. *Comp. Biochem. Physiol.* **98A**: 323-327.

Ellwood, K.C.; Michaelis IV, O.E. (1980). Effect of dietary carbohydrates on blood lipid and glucose levels of lean Zucker rats. *Nutr. Rep. Int.* **21**: 113-122.

Emken, E.A. (1984). Nutrition and biochemistry of trans and positional isomers in hydrogenated oils. *Ann. Rev. Nutr.* **4**: 339-376.

Enerback, S.; Gimble, J.M. (1993). Lipoprotein lipase gene expression: physiological regulators at the transcriptional and post-transcriptional level. *Biochim. Biophys. Acta* **1169**: 107-125.

Enig, M.G.; Atal, S.; Keeney, M.; Sampugna, J. (1990). Isomeric trans fatty acids in the U.S. diet. *J. Am. Coll. Nutr.* **9**: 471-486.

Entressangles, B. (1986). Mise au point sur les isomères trans alimentaires. *Revue Française des Corps Gras* **33**: 47-58.

Erickson, S.K.; Bruscalupi, G.; Devirgiliis, L.C.; Leoni, S.; Mangiantini, M.T.; Spagnuolo, S.; Trentalance, A. (1988). Changes in parameters of lipoprotein metabolism during rat hepatic development. *Biochim. Biophys. Acta* **963**: 525-533.

Erskine, J.M.; Jensen, D.R.; Eckel, R.H. (1994). Macronutrient regulation of lipoprotein lipase is posttranslational. *J. Nutr.* **124**: 500-507.

Escartin-Muñoz, P.; Escartin-Marin, P. (1989). Hepatopatías por fármacos. En: *Medicina Interna en el paciente geriátrico*. (ed) Martin, F. edn. 2. Saned. pp. X/209-X/213. Madrid.

Faidley, T.D.; Luhman, C.M.; Galloway, S.T.; Foley, M.K. (1990). Effect of dietary fat source on lipoprotein composition and plasma lipid concentrations in pigs. *J. Nutr.* **120**: 1129-1133.

Farnworth, E.R.; Kramer, J.K. (1983). The effect of dietary fatty acids on growth and carcass composition in the rat. *Nutr. Rep. Int.* **27**: 799-809.

Farnworth, E.R.; Kramer, J.K. (1987). Effects on animal growth and lipid composition of

- heart, liver and adipose tissue in male rats fed different levels and types of fats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **65**: 1872-1877.
- Fears, R.; Glenny, H.P.; Tredger, J.A.; Lindsay, R. (1981). Sucrose-induced hypertriglyceridemia: relation to HDL-cholesterol and to physical fitness. *Nutr. Rep. Int.* **17**: 663.
- Fehily, A.M.; Burr, M.L.; Phillips, K.M.; Deadman, N.M. (1983). The effect of fatty fish on plasma lipid and lipoproteins concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.* **38**: 349-351.
- Fergusson, M.A.; Koski, K.G. (1990). Comparison of effects of dietary glucose versus fructose during pregnancy on fetal growth and development in rats. *J. Nutr.* **120**: 1312-1319.
- Fernández, M.L.; McNamara, D.J. (1994). Dietary fat saturation and chain length modulate Guinea pigs hepatic cholesterol metabolism. *J. Nutr.* **124**: 331-339.
- Ferrel, C.L.; Koong, K.J. (1986). Influence of plane of nutrition on body composition, organ size and energy utilization of Sprague-Dawley rats. *J. Nutr.* **116**: 2525-2535.
- Feyder, S. (1935). Fat formation from sucrose and glucose. *J. Nutr.* **9**: 457-468.
- Fischer, W.; Ick, M.; Katz, N. (1982). Reciprocal distribution of hexokinase and glucokinase in periportal and perivenous rat liver tissue. *Hoppe-Syler's Z. Physiol. Chem.* **363**: 375-380.
- Flatmark, T.; Nilsson, A.; Kvannes, J.; Eikhom, T.S. (1988). On the mechanism of introduction of the enzyme systems for peroxisomal β -oxidation of fatty acids in rat liver by diets rich in partially hydrogenated fish oil. *Biochim. Biophys. Acta* **962**: 122-130.
- Folch, J.; Lees, M.; Sloane-stanley, G.H. (1957). *J. Biol. Chem.* **226**: 497-509.
- Forbes, J.M. (1992). Metabolic aspects of satiety. *Proc. Nutr. Soc.* **51**: 13-19.
- Frank, H.; Dürk, H.; Thiel, D. (1987). Fatty acids in liver microsomal lipids of rats exposed to hypoxia, tetrachloromethane, or both. *Biochim. Biophys. Acta* **922**: 54-61.
- Friedhoff, R.; Simon, J.A.; Friedhoff, A.J. (1971). Sucrose solution vs. no-caloric sweetener vs. water in weight gain. *J. Am. Diet. Assoc.* **59**: 485-486.
- Friedman, G.; Gavish, D.; Vogel, T.; Eisenberg, S. (1990). Cellular metabolism of human plasma intermediate-density lipoprotein (IDL). *Biochim. Biophys. Acta* **1044**: 118-126.

Fukuda, N.; Igari, N.; Etoh, T.; Hidaka, T.; Ikeda, I.; Sugano, M. (1993). A comparison of the metabolism of cis,cis-, cis,trans/trans,cis- and trans,trans-9,12-octadecadienoic acids in rat liver. *Nutr. Res.* **13**: 779-786.

Fukuda, N.; Ontko, J.A. (1984). Interactions between fatty acids synthesis, oxidation, and esterification in the production of triglyceride-rich lipoproteins by the liver. *J. Lipid Res.* **25**: 831-842.

Fungwe, T.V.; Cagen, L.M.; Cook, G.A.; Wilcox, H.G.; Heimberg, M. (1993). Dietary cholesterol stimulates hepatic biosynthesis of triglyceride and reduces oxidation of fatty acids in the rat. *J. Lipid Res.* **34**: 933-941.

Galambos, J.I.; Wills, C.E. (1979). Relationship between 505 paired liver tests and biopsies in 242 obese patients. *Gastroenterol.* **74**: 1191-1195.

Garg, L.M.; Wierzbicki, A.A.; Thomson, B.R.; Clandinin, M.T. (1988). Fish oil reduces cholesterol and arachidonic acid content more efficiently in rats fed diets containing low linoleic acid to saturated fatty acid ratios. *Biochim. Biophys. Acta* **962**: 337-344.

Garg, L.M.; Wierzbicki, A.A.; Thomson, B.R.; Clandinin, M.T. (1988). Dietary cholesterol and/or n-3 fatty acid modulate delta-9-desaturase activity in rat liver microsomes. *Biochim. Biophys. Acta* **962**: 330-336.

Garg, L.M.; Wierzbicki, A.A.; Thomson, B.R.; Clandinin, M.T. (1989). Omega-3 fatty acids increase the arachidonic acid content of liver cholesterol ester and plasma triacylglycerol fractions in the rat. *Biochem. J.* **261**: 11-15.

Gazzaniga, P.P. (1975). Rat liver isozymes in acute carbon tetrachloride and ethionine poisoning. *Enzyme* **20**: 193-208.

Geelen, M.J.H.; Groever, J.E.M.; De haas, C.E.M.; Wissehof, T.A.; Van golde, L.M.G. (1978). Influence of insulin and glucagon on the synthesis of glycerolipids in rat hepatocytes. *FEBS Lett.*

Gerok, W. (1984). Utilización de las reservas energéticas y obtención de energía en la fase de postabsorción. En: *Bioquímica*. (eds) Jungermann, K.; Möhler, H. Pirámide. pp. 265-385. Madrid.

Gibbons, G.F. (1990). Assembly and secretion of hepatic very-low-density lipoprotein. *Biochem. J.* **268**: 1-13.

- Gibbons, G.F.; Burnham, F.J. (1991).** Effect of nutritional state on the utilization of fatty acids for hepatic triacylglycerol synthesis and secretion as very-low-density lipoprotein. *Biochem. J.* **275**: 87-92.
- Gibson, R.A.; James, M.J.; Neumann, M.A.; Hawkes, J.S.; Cleland, L.G. (1992).** Incorporation of dietary oleate, linoleate, alfa-linoleate and eicosapentaenoate into the plasma lipid fractions of four strains of rat. *Biochim. Biophys. Acta* **1126**: 49-52.
- Girard, J.; Perdereau, D.; Narkewicz, M.; Coupé, C.; Ferré, P.; Decaux, J.F.; Bossard, P. (1991).** Hormonal regulation of liver phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucokinase gene expression in the rat. *Biochimie* **73**: 71-76.
- Gonzalez Manchon, C.; Parrilla, R.; Ayuso, M.S. (1990).** Role of fatty acid in the control of protein synthesis in liver cells. *Biochem. Int.* **21**: 933-940.
- Goodridge, A.G.; Fantozzi, D.A.; Klautky, S.A.; Ma, X.J.; Roncero, C.; Salatti, L.M. (1991).** Nutritional and hormonal regulation of genes for lipogenic enzymes. *Proc. Nutr. Soc.* **50**: 115-122.
- Gordon, T.; Castelli, W.P.; Hjortland, M.S.; Kannel, W.B.; Dawber, T.R. (1977).** High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. *Am. J. Med.* **62**: 707.
- Gottenbos, J.J. (1983).** Biological effects of trans fatty acids. En: Dietary fats and health. (eds) Perkins, E.G.; Visek, W.J. Champaing Ill: Am.Oil Chem.Soc. pp. 375-390.
- Grant, J.P.; Cox, C.E.; Kleinman, L.M. (1977).** Serum hepatic enzyme and bilirubin elevations during parenteral nutrition. *Surg. Gynecol. Obstet.* **145**: 573-580.
- Grant, K.I.; Marais, M.P.; Dhansay, M.A. (1994).** sucrose in a lipid-rich meal amplifies the postprandial excursion of serum and lipoprotein triglyceride and cholesterol concentrations by decreasing triglyceride clearance. *Am. J. Clin. Nutr.* **59**: 853-860.
- Gray, G.M. (1992).** Starch digestion and absorption in nonruminants. *J. Nutr.* **122**: 172-177.
- Grimbert, S.; Fromenty, B.; Fisch, C.; Letteron, P.; Berson, A.; Durand Schneider, A.M.; Feldmann, G.; Pessayre, D. (1993).** Decreased mitochondrial oxidation of fatty acids in pregnant mice: possible relevance to development of acute fatty liver of pregnancy. *Hepatology* **17**: 628-637.

- Gronn, M.; Chistensen, E.; Hagve, T.; Christophersen, B.O. (1992).** Effects of dietary purified eicosapentaenoic acid (20:5(n-3)) and decosahexaenoic (22:6(n-3)) on fatty acid desaturation and oxidation in isolated rat liver cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1125**: 35-43.
- Groot, P.H.E.; Boer, B.C.J.; Haddeman, E.; Houtsmuller, U.M.T. (1988).** Effect of dietary fat composition on the metabolism of triacylglycerol-rich plasma lipoproteins in the postprandial phase in meal-fed rats. *J. Lipid Res.* **29**: 541-552.
- Grummer, R.R.; Carroll, D.J. (1988).** A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. *J. Anim. Sci.* **66**: 3160-3173.
- Grundy, S.M. (1990).** Factores dietéticos que afectan al metabolismo de las lipoproteínas. En: *Alteraciones de los lípidos.* (ed) Gabello, W.J. Merck y Co., Inc.. pp. 3.1-3.35. Hong Kong.
- Guder, W.G.; Schmidt, U. (1976).** Liver cell heterogeneity the distribution of pyruvate kinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase -GTP- in the lobule of fed and starved rats. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **357**: 1783-1800.
- Guesnet, P.; Alessandri, J.M.; Durand, G. (1993).** Métabolisme, fonctions biologiques et importance nutritionnelle des acides gras polyinsaturés. *Cah. Nutr. Diét XXVIII*: 19-25.
- Guillouzo, A.; Beamount, L.; Lerumeur, E.; Rissel, M.; Latinier, M.F.; Gugen-gillouzo, C.; Borel, M. (1982).** New findings of immunolocalization of albumin in rat hepatocytes. *Biol. Cell* **43**: 163-172.
- Gurr, M.I.; Nazeli Borlak, ; Smita Ganatra, (1989).** Dietary fat and plasma lipids. *Nutr. Res.* **2**: 63-86.
- Guzmán, M.; Geelen, M.J.H. (1993).** Regulation of fatty acid oxidation in mammalian liver. *Biochim. Biophys. Acta* **1167**: 227-241.
- Haan, C.J.; Van der Heide, S.; Wolthers, B.G. (1979).** Analysis of fatty acids from human lipids by gas chromatography. *J. Chromatogr.* **162**: 261-267.
- Haave, N.C.; Innis, S.M. (1991).** Perinatal development of hepatic cholesterol synthesis in the rat. *Biochim. Biophys. Acta* **1085**: 35-44.
- Hallfrisch, J.; Reiser, S.; Prather, E.S. (1983).** Blood lipid distribution of hyperinsulinemic men consuming three levels of fructose. *Am. J. Clin. Nutr.* **37**: 740-748.

- Halminski, M.; Marsh, J.B.; Harrison, E.H. (1991).** Differential effects of fish oil, safflower oil and palm oil on fatty acid oxidation and glycerolipid synthesis in rat liver. *J. Nutr.* **121**: 1554-1561.
- Hamilton, L.W. (1971).** Starvation induced by sucrose ingestion in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **77**: 59-69.
- Hanis, T.; Zidek, V.; Sachova, J.; Klir, P.; Deyl, Z. (1989).** Effects of dietary trans-fatty acids on reproductive performance of Wistar rats. *Br. J. Nutr.* **61**: 519-529.
- Hansen, L. (1895).** Les colorations topografiques. En: *Techniques histologiques*. (eds) Masson, ; Cie, pp. 206. Paris.
- Hara, S.L.; Ruhe, R.C.; Curry, D.L.; McDonald, R.B. (1992).** Dietary sucrose enhances insulin secretion of aging Fischer 344 rats. *J. Nutr.* **122**: 2196-2203.
- Harris, R.B.S.; Kor, H. (1992).** Insulin insensitivity is rapidly reversed in rats by reducing dietary fat from 40 to 30% of energy. *J. Nutr.* **122**: 1811-1822.
- Harris, S.G.; Smith, H.C. (1992).** In vitro apolipoprotein B mRNA editing activity can be modulated by fasting and refeeding rats with a high carbohydrate diet. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **183**: 899-903.
- Haug, A.; Hostmark, A.T. (1987).** Lipoprotein lipases, lipoproteins and tissue lipids in rats fed fish oil or coconut oil. *J. Nutr.* **117**: 1011-1017.
- Haug, A.; Hostmark, A.T.; Spydevold, O. (1985).** Plasma lipoprotein distribution, faecal cholesterol excretion and activities of lipoprotein lipase, hepatic lipase and lecithin cholesterol acyltransferase in rats fed diets rich in sucrose or sunflower oil. *Acta Physiol. Scand.* **125**: 609-617.
- Haussinger, D. (1986).** Regulation of hepatic ammonia metabolism: The intracellular glutamine cycle. *Adv. Enzyme Reg.* **25**: 159-180.
- Havel, R. (1994).** McCollum Award Lecture, 1993: Triglyceride-rich lipoproteins and atherosclerosis. New perspectives. *Am. J. Clin. Nutr.* **59**: 795-799.
- Hayes, K.C.; Khosla, P. (1992).** Dietary fatty acid thresholds and cholesterolemia. *FASEB J.* **6**: 2600-2607.

- Hátle, K.; Mares, P.; Vrána, A. (1990).** Effects of dietary n-3 fatty acids on the composition of cholesterol esters and triglycerides in plasma and liver perfusate of the rat. *J. Nutr. Biochem.* **1**: 472-477.
- Hennig, B.; Toborek, M.; Cader, A.A.; Decker, E.A. (1994).** Nutrition, endothelial cell metabolism, and atherosclerosis. *Crit. Rev. Food Nutr.* **34**: 253-282.
- Herman, R.H.; Zakim, D.; Stifel, F.B. (1970).** Effect of diet on lipid metabolism in experimental animals and man. *Fed. Proc.* **29**: 1302-1307.
- Herrerías, J. (1983).** Hígado y alcohol. En: Enfermedades hepáticas. Estado actual de su diagnóstico y tratamiento. (ed) Andreu, F. pp. 57-80. Madrid.
- Herzberg, G.R. (1983).** The influence of dietary fatty acid composition on lipogenesis. *Adv. Nutr. Res.* **5**: 221-253.
- Herzberg, G.R. (1991).** The 1990 Borden Award Lecture. Dietary regulation of fatty acid and triglyceride metabolism. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **69**: 1637-1647.
- Herzberg, G.R.; Rogerson, A.M. (1982).** Interaction of the level of dietary fat and type of carbohydrate in the regulation of hepatic lipogenesis in the mouse. *Can. J. Physiol.* **41**: 258-265.
- Herzberg, G.R.; Rogerson, M. (1988b).** Hepatic fatty acid synthesis and triglyceride secretion in rats fed fructose- or glucose-based diets containing corn oil, tallow or marine oil. *J. Nutr.* **118**: 1061-1067.
- Herzberg, G.R.; Rogerson, M. (1988a).** Interaction of dietary carbohydrate and fat in the regulation of hepatic and extrahepatic lipogenesis in the rat. *Br. J. Nutr.* **59**: 233-241.
- Herzberg, G.R.; Rogerson, M. (1992).** Dietary fat eliminates the stimulation of hepatic triacylglycerol secretion in fructose-fed rats. *Nutr. Res.* **12**: 529-542.
- Higgins, H.L. (1916).** The rapidity with which alcohol and some sugars may serve as nutrients. *Am. J. Physiol.* **41**: 258-265.
- Hill, J.O.; Peters, J.C.; Lin, D.; Yakubu, F.; Greene, H.; Swift, L. (1993).** Lipid accumulation and body fat distribution is influenced by type of dietary fat fed to rats. *Int. J. Obes. Relat. Metab. disord.* **17**: 223-236.
- Hill, P. (1969).** Effect of fructose on rat lipids. *Lipids* **5**: 621-627.

Hirano, T.; Kaplowitz, N.; Tsukamoto, H.; Kamimura, S.; Fernández-Checa, J.C. (1992). hepatic mitochondrial glutathione depletion and progression of experimental alcoholic liver disease in rats. *Hepatology* 16: 1423-1427.

Hirano, T.; Mamo, J.; Poapst, M.; Kuksis, A.; Steiner, G. (1989). Impaired very-low-density lipoprotein-triglyceride catabolism in acute and chronic fructose-fed rats. *Am. J. Physiol.* 256: E559-E565.

Hirano, T.; Mamo, J.; Poapst, M.; Steiner, G. (1988). Very-low-density lipoprotein triglyceride kinetics in acute and chronic carbohydrate-fed rats. *Am. J. Physiol.* 255: E236-E240.

Hjelte, L.; Strandvik, B.; Nilsson, A. (1990). Metabolism of arachidonic acid- and linoleic acid-labelled chylomicrons in essential fatty acid-deficient rats. *Biochim. Biophys. Acta* 1044: 101-110.

Holder, J.C.; Zammit, V.A.; Robinson, D.S. (1990). The preferential uptake of very-low-density lipoprotein cholesteryl ester by rat liver in vivo. *Biochem. J.* 272: 735-741.

Holecek, M.; Simek, J.; Dvoráková, I.; Subrtová, D.; Palicka, V. (1986). spontaneous ingestion of different types of carbohydrates in rats with liver damage and their effect on liver repair. *Cs. Gastroent. Vyz.* 40: 275-286.

Holman, R.T. (1960). the ratio of trienoic, tetraenoic acids in tissue lipids as a measure of essential fatty acid requirement. *J. Nutr.* 70: 405-410.

Holman, R.T.; Mahfouz, M.M.; Lawson, L.D.; Hill, E.G. (1983). Metabolic effects of isomeric octadecenoic acids. En: *Dietary fats and health.* (eds) Perkins, E.G.; Visek, W.J. Champaign Ill: Am. Oil Chem. Soc. pp. 320-340.

Holman, R.T.; Pusch, F.; Svingen, B.; Dutton, H.J. (1991). Unusual isomeric polyunsaturated fatty acids in liver phospholipids of rats fed hydrogenated oil. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 88: 4830-4834.

Holmer, G.; Hoy, C.E.; Kirstein, D. (1982). Influence of partially hydrogenated vegetable and marine oils on lipid metabolism in the rat liver and heart. *Lipids* 17: 585-593.

Holmer, G.; Ronneberg, R. (1986). Influence of dietary fat on metabolism of (14-¹⁴C) erucic acid in the perfused rat liver. Distribution of metabolites in lipid classes. *Lipids* 21: 395-400.

- Horigome, T.; Cho, Y.S. (1992).** Dietary casein and soybean protein affect the concentrations of serum cholesterol, triglyceride and free amino acids in rats. *J. Nutr.* **122**: 2273-2282.
- Horio, Y.; Tanaka, T.; Taketoshi, M.; Uno, T.; Wada, H. (1988).** Rat cytosolic aspartate aminotransferase: regulation of its messenger RNA and contribution to gluconeogenesis. *J. Biochem.* **103**: 805-808.
- Hornstra, G. (1989).** The significance of fish and fish-oil enriched food for prevention and therapy of ischaemic cardiovascular disease. En: *The role of fats in human nutrition.* (eds) Vergroesen, A.J.; Crawford, M. edn. 2. Academic Press. pp. 152-235.
- Horrobin, D.F.; Manku, M.S. (1983).** How do polyunsaturated fatty acids lower plasma cholesterol levels? *Lipids* **18**: 558-562.
- Hostmark, A.T.; Askevold, R. (1978).** Plasma lipid concentration and lipoprotein distribution in rats fed iron deficient high sucrose diets containing different types of fat. *Artery* **4**: 129-143.
- Hostmark, A.T.; Eilertsen, E.; Gronnerod, O. (1979).** Plasma lipid and lipoprotein responses of rats to starch and sucrose diets with and without Brewer's yeast. *J. Nutr.* **109**: 1073-10XX.
- Hostmark, A.T.; Gronnerod, O. (1979).** Plasma lipoprotein distribution in rats fed sucrose or starch diets. *Nutr. Rep. Int.* **19**: 445-449.
- Hostmark, A.T.; Lystad, E.; Haug, A.; Eilertsen, E. (1989).** Plasma lipids, lipoproteins, and fecal excretion of neutral sterols and bile acids in rats fed various high fat diets or a low fat/high sucrose diet. *J. Nutr.* **119**: 356-363.
- Hostmark, A.T.; Rasmussen, E.W.; Askevold, R. (1978).** Dissociation between dietary effects on plasma lipid concentration and on plasma lipoprotein distribution in selected rats. *J. Nutr.* **108**: 1823-1829.
- Hostmark, A.T.; Spydevold, O.; Lystad, E. (1982).** Plasma lipoproteins in rats fed starch, sucrose, glucose or fructose. *Nutr. Rep. Int.* **25**: 161-167.
- Hostmark, A.T.; Spydevold, O.; Lystad, E. (1982).** Plasma high density lipoprotein subgroup distribution in rats fed diets with varying amounts of sucrose and sunflower oil. *Lipids* **17**: 489-499.
- Houtsmuller, U.M.T. (1978).** Biochemical aspects of fatty acids with trans double bonds. *Fette Seifen Anstrichm.* **80**: 162-169.

Hoy, C.E.; Holmer, G.; Kaur, N.; Byrjalsen, I. (1983). Acyl group distributions in tissue lipids of rats fed evening primrose oil (delta-linoleic acid) or soybean oil (alfa-linoleic plus linoleic acid). *Lipids* **18**: 760-771.

Huang, Y.S.; Horrobin, D.F. (1987). Effect of dietary cholesterol and polyunsaturated fats on plasma and liver lipids in guinea pigs. *Ann. Nutr. Metab.* **31**: 18-28.

Huang, Y.S.; Manku, M.S.; Horrobin, D.F. (1984). The effects of dietary cholesterol on blood and liver polyunsaturated fatty acids and on plasma cholesterol in rats fed various types of fatty acid diet. *Lipids* **19**: 664-672.

Huang, Y.S.; Smith, R.S.; Redden, P.R.; Cantrill, R.C.; Horrobin, D.F. (1991). Modification of liver fatty acid metabolism in mice by n-3 and n-6 delta-6-desaturase substrates and products. *Biochim. Biophys. Acta* **1082**: 319-327.

Huang, Y.S.; Watanabe, Y.; Horrobin, D.F.; Simmons, V. (1990). The effects of dietary protein and cholesterol on tissue cholesterol contents and n-6 fatty acid compositions in rats and mice fed a gamma-linolenato-rich diet. *Monogr. Atheroscler.* **16**: 11-25.

Hudgins, L.C.; Hirsch, J.; Emken, E.A. (1991). Correlation of isomeric fatty acids in human adipose tissue with clinical risk factors for cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**: 474-482.

Hunter, J.E. (1992). Safety and health effects of isomeric fatty acids. En: Fatty acids in foods and their health implications. (ed) Chow, C.K. edn. 1. Marcel Dekker. pp. 857-868. Nueva York.

Hunter, J.E.; Applewhite, T.H. (1991). Reassessment of trans fatty acid availability in the US diet. *Am. J. Clin. Nutr.* **54**: 363-369.

Hülsmann, W.C.; Kort, W.J. (1983). Saturated fat feeding, hyperlipidemia and hyperinsulinemia. *Biochim. Biophys. Acta* **754**: 231-237.

Hwang, D. (1992). Dietary fatty acids and eicosanoids. En: Fatty acids in foods and their health implications. (ed) Chow, C.K. edn. 1. Marcel Dekker. pp. 545-558. Nueva York.

Ide, T.; Murata, M.; Moriuchi, H. (1992). Microsomal triacylglycerol synthesis and diacylglycerol concentration in the liver of rats fed with soybean and egg yolk phospholipids. *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**: 732-735.

IFFA CREDO. (1984). Laboratory animals technical mammals: rat Wistar.

Imaizumi, K.; Tominaga, A.; Sato, A. (1992). Effects of dietary sphingolipids on levels of serum and liver lipids in rats. *Nutr. Res.* **12**: 543-548.

Iritani, N.; Nishimoto, N.; Katsurada, A.; Fukuda, H. (1992). regulation of hepatic lipogenic enzyme gene expression by diet in rats fed a fat free, high carbohydrate diet. *J. Nutr.* **122**: 28-36.

Israel, K.D.; Michaelis IV, O.E.; Reiser, S.; Keeney, M. (1983). Serum uric acid, inorganic phosphorus and glutamic-oxalacetic transaminase and blood pressure in carbohydrate-sensitive adults consuming three different levels of sucrose. *Ann. Nutr. Metab.* **27**: 425-435.

Isselbacher, K.J.; LaMont, J.T. (1986). Harrison. Padecimientos infiltrantes y metabólicos que afectan al hígado. En: Principios de Medicina Interna. (eds) Petersdorf, G.; Raymon, D.; Braunwald, E.; Isselbacher, K.; Martin, J.; Wilson, J. edn. 6. McGraw-Hill. pp. 2541-2545. México.

Isselbacher, K.J.; LaMont, J.T. (1986). Procedimientos diagnósticos en las enfermedades del hígado. En: Harrison. Principios de Medicina Interna. (eds) Braunwald, E.; Isselbacher, K.; Martin, J.; Petersdorf, G.; Raymon, D.; Wilson, J. edn. 6th. McGraw-Hill. pp. 2486-2492. México.

Itoh, S.; Yougel, T.; Kawagoe, K. (1987). Comparison between nonalcoholic steatohepatitis and alcoholic hepatitis. *Am. J. Gastroenterol.* **82**:

Iwata, T.; Hoshi, S.; Takehisa, F.; Tsutsumi, K.; Furukawa, Y.; Kimura, S. (1992). The effect of dietary safflower phospholipid and soybean phospholipid on plasma and liver lipids in rats fed a hypercholesterolemic diet. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **38**: 471-479.

Iwata, T.; Kimura, Y.; Tsutsumi, K.; Furukawa, Y.; Kimura, S. (1993). The effect of various phospholipids on plasma lipoproteins and liver lipids in hypercholesterolemic rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **39**: 63-71.

Jackson, B.; Gee, A.N.; Martinez-Cayueta, M.; Suckling, K.E. (1990). The effects of feeding a saturated fat-rich diet on enzymes of cholesterol metabolism in the liver, intestine and aorta of the hamster. *Biochim. Biophys. Acta* **1045**: 21-28.

Jansen, H.; Van tol, A.; Hulsmann, W.C. (1980). On the metabolic function of heparin-releasable liver lipase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **92**: 53-59.

Jaramillo, J.L.; Lopez, F. (1985). Hepatitis y lesiones tóxicas del hígado. En: Atlas de

Hepatología y Gastroenterología. EMISA. pp. 59-80. Madrid.

Jauhiainen, M.; Aro, A.; Blomqvist, S.M.; Kempainen, A.; Alaviuhkola, T.; Antilas, P. (1993). Effects of milk fat, unhydrogenated and partially hydrogenated vegetable oils on serum lipoproteins in growing pigs. *Comp. Biochem. Physiol.* **106A**: 565-570.

Jen, K-L.C.; Rochon, C.; Zhong, S.; Whitcomb, L. (1991). Fructose and sucrose feeding during pregnancy and lactation in rats changes maternal and pup fuel metabolism. *J. Nutr.* **121**: 1999-2005.

Jiang, Z.; Sim, J.S. (1992). Effects of dietary n-3 fatty acid-enriched chicken eggs on plasma and tissue cholesterol and fatty acid composition of rats. *Lipids* **27**: 279-284.

Johnson, W.J.; Mahlberg, F.H.; Rothblat, G.H.; Philips, M.C. (1991). Cholesterol transport between cells and high-density lipoproteins. *Biochim. Biophys. Acta* **1085**: 273-299.

Jonas, A. (1990). Lecithin-cholesterol acyltransferase in the metabolism of high-density lipoproteins. *Biochim. Biophys. Acta* **1084**: 205-220.

Jones, A.L.; Spring-Mill, E. (1988). The liver and gallbladder. En: *Cell and Tissue Biology A textbook of histology.* (ed) Weiss, L. edn. 6. Urban y Schwarzenberg. pp. 685-714. Baltimore. Munich.

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

Jungermann, K. (1986a). Zonal signal heterogeneity and induction of hepatocyte heterogeneity. En: *Regulation of hepatic metabolism: intra- and intercellular compartmentation.* (eds) Thurman, R.G.; Kauffman, F.C.; Jungermann, K. Plenum Publishing. pp. 445-469.

Jungermann, K. (1986b). Functional heterogeneity of periportal and perivenous hepatocytes. *Enzyme* **35**: 161-180.

Jungermann, K. (1987). Metabolic zonation in liver parenchyme: significance for metabolism, gluconeogenesis and glycolysis. *Diabetes Metab. Rev.* **3**: 269-293.

Jungermann, K. (1988). Metabolic zonation of liver parenchyma. *Sem. Liver Dis.* **8**: 329-341.

Jungermann, K. (1992). Role of intralobular compartmentation in hepatic metabolism. *Diabete*

Metab. **18**: 81-86.

Jungermann, K.; Katz, N. (1982). Functional hepatocellular heterogeneity. *Hepatology* **2**: 385-395.

Jungermann, K.; Katz, N. (1986). Metabolism of carbohydrates. En: Regulation of hepatic metabolism: intra- and intercellular compartmentation. (eds) Thurman, R.G.; Kauffman, F.C.; Jungermann, K. Plenum Publishing. pp. 211-235.

Jungermann, K.; Katz, N. (1989). Functional specialization of different hepatocyte populations. *Physiol. Revs.* **69**: 708-764.

Jungermann, K.; Sasse, D. (1978). Heterogeneity of liver parenchymal cells. *Trends Biochem. Sci.* **3**: 561-577.

Kafatos, A.; Chrysafidis, D.; Peraki, E. (1994). Fatty acids composition of Greek margarines. Margarine consumption by the population of Crete and its relationship to adipose tissue analysis. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **45**: 107-114.

Kanarek, R.B.; Aprille, J.R.; Hirsch, E.; Gualtiere, L.; Brown, C.A. (1987). Sucrose-induced obesity: effect of diet on obesity and brown adipose tissue. *Am. J. Physiol.* **253**: R158-R166.

Kanarek, R.B.; Hirsch, E. (1977). Dietary-induced overeating in experimental animals. *Fed. Proc.* **36**: 154-158.

Kanarek, R.B.; Orthen-gambill, N. (1982). Differential effects of sucrose, fructose, and glucose on carbohydrate-induced obesity in rats. *J. Nutr.* **112**: 1546-1554.

Kang, S.S.; Fears, R.; Noiro, S.; Mbanya, J.N.; Yudkin, J. (1982). Changes in metabolism of rat kidney and liver caused by experimental diabetes and by dietary sucrose. *Diabet.* **22**: 285-288.

Karsenty, C.; Chanussot, F.; Ulmer, M.; Debry, G. (1985a). Influence of chronic ethanol intake on obesity, liver steatosis and hyperlipidaemia in the Zucker fa/fa rat. *Br. J. Nutr.* **54**: 5-13.

Karsenty, C.; Ulmer, M.; Chanussot, F.; Ratanasavanh, R.; Debry, G. (1985b). paradoxical effect of ethanol on liver lipogenesis in the genetically-obese Zucker rat. *Br. J. Nutr.* **54**: 15-20.

Kashimoto, S.; Okamoto, K.; Maeda, K.; Yagiu, K.; Kato, T. (1986). Effect of intake of carbohydrate, protein, and fat on serum levels of HDL-cholesterol and apolipoproteins AI and AII.

Jpn. J. Hyg. **41**: 10-61.

Kasser, T.R.; Harris, R.B.S.; Martin, R.J. (1989). Level of satiety: in vitro energy metabolism in brain during hypophagic and hyperphagic body weight recovery. *Am. J. Physiol.* **257**: R1322-R1327.

Katan, M.B. (1984). diet and HDL. En: Clinical and metabolic aspects of high-density-lipoproteins. (eds) Miller, N.E.; Miller, G.J. Elsevier Sc. publishers. pp. 103.

Katsurada, A.; Fukuda, H.; Iritani, N. (1986). Effects of dietary nutrients on substrate and effector levels of lipogenic enzymes, and lipogenesis from tritiated water in rat liver. *Biochim. Biophys. Acta* **878**: 200-208.

Katsurada, A.; Iritani, N.; Fukuda, H.; Noguchi, T.; Tanaka, T. (1986). Effects of dietary nutrients on lipogenic enzyme and mRNA activities in rat liver during induction. *Biochim. Biophys. Acta* **877**: 350-358.

Katz, J.; Kuwajima, M.; Foster, D.W.; McGarry, J.D. (1986). The glucose paradox: new perspectives on hepatic carbohydrate metabolism. *TIBS* **11**: 136-140.

Katz, N.; Fischer, W.; Giffhorn, S. (1983). Distribution of enzymes of fatty acid and ketone body metabolism in periportal and perivenous rat liver tissue. *Eur. J. Biochem.* **135**: 103-107.

Katz, N.; Fischer, W.; Ick, M. (1983). Heterogeneous distribution of ATP citrate lyase in rat liver parenchyma. *J. Biochem.* **130**: 297-301.

Katz, N.; Jungermann, K. (1976). Autoregulatory shift from fructolysis to lactate gluconeogenesis in rat hepatocyte suspensions. The problem of metabolic zonation of liver parenchyma. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* **357**: 359-375.

Katz, N.; Teutsch, H.F.; Jungermann, K.; Sasse, D. (1976). Perinatal development of the metabolic zonation of hamster liver parenchyma. *FEBS Lett.* **69**: 23-28.

Katz, N.; Teutsch, H.F.; Sasse, D.; Jungermann, K. (1977). Heterogeneous distribution of glucose-6-phosphatase in microdissected periportal and perivenous rat liver tissue. *FEBS Lett.* **76**: 226-230.

Katz, N.; Teutsch, H.F.; Sasse, D.; Jungermann, K. (1977). Heterogeneous reciprocal localization of fructose-1,6-diphosphatase and glucokinase in microdissected periportal and perivenous rat liver tissue. *FEBS Lett.* **83**: 272-276.

- Kazumi, T.; Uranic, M.; Steiner, G. (1986).** Triglyceride kinetics: effects of dietary glucose, sucrose o fructose alone or with hyperinsulinemia. *Am. J. Physiol.* **250**: E325-E330.
- Keim, N.L. (1987).** Nutritional effectors of hepatic steatosis induced by parenteral nutrition in the rat. *J. Parent. Enteral Nutr.* **11**: 18-22.
- Kelley, D.S.; Nelson, G.J.; Serrato, C.M.; Schmidt, P.C. (1987).** Nutritional regulation of hepatic lipogenesis in the rat. *Nutr. Res.* **7**: 509-517.
- Kelly, J.F. (1990).** The metabolic role of n-3 polyunsaturated fatty acids: relationship to human disease. *Comp. Biochem. Physiol.* **98A**: 581-585.
- Kenney, J.J.; Collier, R. (1976).** Dietary-induced overeating in experimental animals. *Fed. Proc.* **36**: 154-158.
- Khan, B.V.; Fungwe, T.V.; Wilcox, H.G.; Heimberg, M. (1990).** Cholesterol is required for the secretion of the very-low-density lipoprotein: in vivo studies. *Biochim. Biophys. Acta* **1044**: 297-304.
- Khor, H.T.; Chong, Y.H. (1988).** The digestion, absorption and utilization of refined palm oil, palm olein and palm stearin in the rat. *Pertanika* **11**: 399-406.
- Khosla, P.; Hayes, K.C. (1991).** Dietary fat saturation in rhesus monkeys affects LDL concentration by modulating the independent production of LDL apolipoprotein B. *Biochim. Biophys. Acta* **1083**: 46-56.
- Khosla, P.; Hayes, K.C. (1993).** Dietary palmitic acid raises plasma LDL cholesterol relative to oleic acid only at a high intake of cholesterol. *Biochim. Biophys. Acta* **1210**: 13-22.
- Kim, H.; Mimura, H.; Orita, K. (1990).** Carbohydrate metabolism of rats with biliary obstruction. *Acta Med. Okayama.* **44**: 171-186.
- Kinnunen, P.K.; Virtanen, J.A.; Vainio, P. (1983).** lipoprotein lipase and hepatic endothelial lipase: their roles in plasma lipoprotein metabolism. En: *Atherosclerosis reviews.* (eds) Gotto, A.M.; Paoletti, R. Raven Press. pp. 65-69. Nueva York.
- Knapp, B.A.; Farkas, S.P.; Braver, M.J.; Gollan, L.L. (1987).** Hepatitis aguda. En: *Gastroenterología. Diagramas.* (eds) Knapp, B.A.; Farkas, S.P. Idepsa. pp. 115-124. Madrid.

- Knuiman, J.T.; West, C.E.; Katan, M.B.; Hautvast, G.A.J. (1987).** Total cholesterol and high density lipoprotein cholesterol levels in populations differing in fat and carbohydrate intake. *Atherosclerosis* 7: 612-619.
- Koelz, H.R.; Sherril, B.C.; Turley, S.D.; Dietschy, J.M. (1982).** Correlation of low and high density lipoprotein binding in vivo with rates of lipoprotein degradation in the rat. *J. Biol. Chem.* 257: 8061-8072.
- Kohn, D.F.; Barthold, S.W. (1984).** Biology and diseases of rats. En: Laboratory animal medicine. (eds) Fox, J.G.; Cohen, B.J.; Loew, F.M. Academic Press. pp. 91-120.
- Koletzko, B. (1991).** [Supply, metabolism and biological effects of trans-isomeric fatty acids in infants]. *Nahrung.* 35: 229-283.
- Koletzko, B. (1992).** Trans fatty acids may impair biosynthesis of long-chain polyunsaturates and growth in man. *Acta Paediatr.* 81: 302-306.
- Korieh, A.; Crouzoulon, G. (1991).** Dietary regulation of fructose metabolism in the intestine and in the liver of the rat. Duration of the effects of high fructose diet after the return to the standard diet. *Arch. Int. Physiol. Biochim. Biophys.* 99: 455-460.
- Krahenbuhl, S.; Weber, F.L.J.; Brass, E.P. (1991).** Decreased hepatic glycogen content and accelerated response to starvation in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Hepatology* 14: 1189-1195.
- Kramer, J.K.; Sauer, F.D.; Wolynetz, M.S.; Farnworth, E.R.; Johnston, K.M. (1992).** Effects of dietary saturated fat on erucic acid induced myocardial lipidosis in rats. *Lipids* 27: 619-623.
- Kramer, T.R.; Briske-Anderson, M.; Johnson, S.B.; Holman, R.T. (1986).** Influences of dietary polyunsaturated or saturated fats and of concanavalin-a upon proliferation of spleen lymphoid cells from rats. *Nutr. Res.* 12196: 1227.
- Kris-etherton, P.M. (1993).** Effects of chain length of saturated fatty acids on plasma total, LDL- and HDL-cholesterol levels. *Fat. Sci. Technol.* 9: 448-452.
- Kris-etherton, P.M.; Derr, J.; Mitchell, D.C.; Mustad, V.A. (1993).** The role of fatty acid saturation on plasma lipids, lipoproteins, and apolipoproteins: I. Effects of whole food diets high in cocoa butter, olive oil, soybean oil, dairy butter, and milk chocolate on the plasma lipids of young men. *Metabolism* 42: 121-129.

- Kritchevsky, D. (1978).** Fiber, lipids and atherosclerosis. *Am. J. Clin. Nutr.* **31**: S63-S74.
- Kritchevsky, D. (1988).** Dietary fiber. *Ann. Rev. Nutr.* **8**: 301-328.
- Kritchevsky, D.; Tepper, S.A.; Klurfeld, D.M. (1991).** Influence of flaxseed on serum and liver lipids in rats. *J. Nutr. Biochem.* **2**: 133-134.
- Kritchevsky, D.; Tepper, S.A.; Ryder, E.; Davidson, L.M. (1990).** Influence of peanut oil of different origins metabolism in rats. *Nutr. Res.* **10**: 997-1004.
- Kromhout, D.; Arntzenius, A.C.; Kempen-Vooogd, N.; Kempen, H.J.; Barth, J.D.; Voort, H.A. van der (1987).** Long-term effects of a linoleic acid-enriched diet, changes in body weight and alcohol consumption on serum total and HDL-cholesterol. *Atherosclerosis* **66**: 99-105.
- Kullen, M.J.; Parente, J.A.; Berdanier, C.D. (1994).** Effects of type of dietary fat and protein on gluconeogenesis in isolated hepatocytes from BHE/cdb rats. *J. Nutr. Biochem.* **5**: 227-231.
- Kurata, N.; Privett, O.S. (1980).** Effect of dietary fatty acid composition on the biosynthesis of unsaturated fatty acids in rat liver microsomes. *Lipids* **15**: 512-518.
- Kurata, N.; Privett, O.S. (1980).** Effects of dietary trans fatty acids on the biosynthesis of arachidonic acid in rat liver microsomes. *Lipids* **15**: 1029-1036.
- Lagrost, L. (1992).** Differential effects of cis and trans fatty acid isomers, oleic and elaidic acids, on cholesteryl ester transfer protein activity. *Biochim. Biophys. Acta* **1124**: 159-162.
- Lagrost, L.; Barter, P.J. (1991).** Effects of various non-esterified fatty acids on the transfer of cholesteryl esters from HDL to LDL induced by the cholesteryl ester transfer protein. *Biochim. Biophys. Acta* **1085**: 209-216.
- Lai, H.C.; Ney, D.M.; Lasekan, J.B.; Yang, H.; Clayton, M.K. (1991).** In vivo determination of triglyceride secretion using radioactive glycerol in rats fed different dietary saturated fats. *Lipids* **26**: 824-830.
- Lairon, D.; Lacombe, C.; Borel, P.; Corraze, G. (1987).** Beneficial effects of wheat germ on circulating lipoproteins and tissue lipids in rats fed a high fat, cholesterol-containing diet. *J. Nutr.* **117**: 838-845.
- Lands, W.E.M. (1991).** Biosynthesis of prostaglandins. *Ann. Rev. Nutr.* **11**: 41-60.

Lands, W.E.M.; Libelt, B.; Morris, A.; Kramer, N.C.; Prewitt, T.E.; Bowen, P.; Schmeisser, D.; Davidson, M.H.; Burns, J.H. (1992). Maintenance of lower proportions of (n-6) eicosanoid precursors in phospholipids of human plasma in response to added dietary (n-3) fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* **1180**: 147-162.

Lands, W.E.M.; Morris, A.; Libelt, B. (1990). Quantitative effects of dietary polyunsaturated fats on the composition of fatty acids in the rat tissues. *Lipids* **25**: 505-516.

Laube, H.; Klor, H.U.; Fussganger, R.; Pfeiffer, E.F. (1973). The effect of starch, sucrose, glucose and fructose on lipid metabolism in rats. *Nutr. Metab.* **15**: 273-280.

Leal, J.C.; Barrios, C.; Pineda, J.R. (1989). Anamnesis, exploración física y métodos diagnósticos en las enfermedades hepatobiliares. En: Medicina Interna en el paciente geriátrico. (ed) Martin, F. edn. 2. Saned . pp. X/177-X/187. Madrid.

Leal, J.C.; Garrido, A.; Pineda, J.R. (1989). Alcohol e hígado. En: Medicina Interna en el paciente geriátrico. (ed) Martin, F. edn. 2. Saned. pp. X/213-X/220. Madrid.

Leat, W.M.F. (1983). Nutritional deficiencies and fatty acid metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* **42**: 333-343.

Lebouton, A.V. (1982). Routine overnight starvation and immunocytochemistry of hepatocyte albumin content. *Cell Tissue Res.* **227**: 423-427.

Lee, J.H.; Fukumoto, M.; Ikeda, I.; Sugano, M. (1991). Effect of oleic acid level under constant n-6/n-3 and P/S ratios of dietary fats on lipid metabolism in rats. *Agric. Biol. Chem.* **55**: 1793-1798.

Lee, M.; Szepesi, B.; Hansen, R.J. (1987). Dietary induction of hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, and malic enzyme in lean and obese female Zucker rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **184**: 278-284.

Lefkowitz, J.B. (1990). Accelerated essential fatty acid deficiency by delta-9 desaturase induction: dissociation between the effects on liver and other tissues. *Biochim. Biophys. Acta* **1044**: 13-19.

Legrand, P.; Bensadoun, A. (1991). stearyl-CoA desaturase activity in cultured rat hepatocytes. *Biochim. Biophys. Acta* **1086**: 89-94.

Leikin, A.I.; Brenner, R.R. (1987). Cholesterol-induced microsomal changes modulate

desaturase activities. *Biochim. Biophys. Acta* **922**: 294-303.

Lemarchal, P. (1988). La régulation hormonale et nutritionnelle des désaturases. *Cah. Nutr. Diét* **XXIV**: 99-106.

Levin, B.L.; Finnegan, M.; Triscari, J.; Sullivan, A.C. (1985). Brown adipose and metabolic features of chronic diet-induced obesity. *Am. J. Physiol.* **248**: 717-723.

Levin, R.J. (1994). Digestion and absorption of carbohydrates-from molecules and membranes to humans. *Am. J. Clin. Nutr.* **59**: 690s-698s.

Levy, E.; Roy, C.C.; Goldstein, R.; Bar On, H.; Ziv, E. (1991). Metabolic fate of chylomicrons obtained from rats maintained on diets varying in fatty acid composition. *J. Am. Coll. Nutr.* **10**: 69-78.

Levy, E.; Thibault, L.; Garofalo, C.; Messier, M.; Lepage, G.; Ronco, N.; Roy, C.C. (1990). Combined (n-3 and n-6) essential fatty deficiency is a potent modulator of plasma lipids, lipoprotein composition, and lipolytic enzymes. *J. Lipid Res.* **31**: 2009-2017.

Lewis, B. (1976). influence of diet, energy balance and hormones on serum lipids. En: *The hyperlipidaemias*. Blachwell Sci.Publ. Oxford. pp. 133-155.

Leyton, J.; Drury, P.J.; Crawford, M.A. (1987). Differential oxidation of saturated and unsaturated fatty acids in vivo in the rat. *Br. J. Nutr.* **57**: 383-393.

Lhuillery, C.; Mebarki, S.; Lecourtier, M-J.; Damarne, Y. (1988). Influence of different dietary fats on the incorporation of exogenous fatty acids into rat adipose glycerides. *J. Nutr.* **118**: 1447-1454.

Li, S.; Nussbaum, M.S.; McFadden, D.W.; Zhang, F-S.; LaFrance, R.J.; Dayal, R.; Fischer, J.E. (1990). Addition of L-glutamine to total parenteral nutrition and Its effects on portal insulin and glucagon and the development of hepatic steatosis in rats. *J. Surg. Res.* **48**: 421-426.

Lichtenstein, A.H.; Ausman, L.M.; Carrasco, W.; Jenner, J.L.; Ordovas, J.M.; Schaefer, E.J. (1993). Hydrogenation impairs the hypolipidemic affect of corn oil in humans. *Arterioscler. Thromb.* **13**: 154-161.

Lillie, R.D. (1965). . En: *Histopathologic technics and practical histochemistry*. edn. 3rd . McGraw Hill. Nueva York.

- Lin, E.C.K.; Fernández, M.L.; McNamara, D.J. (1992).** Dietary fat type and cholesterol quantity interact to affect cholesterol metabolism in guinea pigs. *J. Nutr.* **122**: 2019-2029.
- Linder, M.C. (1991).** Nutrition and metabolims of carbohydrates. En: Nutritional, biochemistry and metabolism. With clinical applications. (ed) Linder, M.C. edn. 2^a. Prentice-Hall International Inc.. pp. 21-50.
- Little, J.A.; McGuire, V.; Derksen, A. (1979).** Available carbohydrates. En: Nutrition, lipids and coronary heart disease. (eds) Levy, R.I.; Rifkind, B.M.; Dennis, B.H.; Ernst, N.D. Raven Press. pp. 119-148.
- Lopez-Virella, M.F. (1977).** . *Clin. Chem.* **23**: 282.
- Lopez, A.; Hodges, R.E.; Krehl, .A. (1966).** Some interesting relationships between dietary carbohydrates and serum cholesterol. *Am. J. Clin. Nutr.* **18**: 149-153.
- Loscher, W.; Wahnschaffe, U.; Honack, D.; Wittfoht, W.; Nau, H. (1992).** Effects of valproate and E-2-en-valproate on functional and morphological parameters of rat liver. I. Biochemical, histopathological and pharmacokinetic studies. *Epilepsy. Res.* **13**: 187-198.
- Lottenberg, A.M.; Oliveira, H.C.; Nakandakare, E.R.; Quintao, E.C. (1992).** Effect of dietary fish oil on the rate of very low density lipoprotein triacylglycerol formation and on the metabolism of chylomicrons. *Lipids* **27**: 326-330.
- Loud, A.V. (1968).** Quantitative stereological description of the ultrastructure of normal rat liver parenchymal cells. *J. Cell Biol.* **37**: 27-46.
- López Novoa, J.M.; Navarro, V.; Rodicio, J.L.; Hernando, L. (1976).** Cirrosis experimental de insaturación rápida. Cronología de aparición de las lesiones hepáticas. *Patología IX*: 233-240.
- Ludbrook, J. (1991).** On making multiple comparisons in clinical and experimental pharmacology and physiology. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **18**: 379-392.
- Macdonald, I. (1973).** Progress in biochemical pharmacology. En: . (ed) Paoletti, R. S. Karger, München. pp. 216-241.
- Macdonald, I. (1978).** The effects of dietary carbohydrates on high density lipoprotein levels in serum. *Nutr. Rep. Int.* **17**: 663.
- Macrae, A.R.; Nickel, I.; Slinger, S.J.; Neudoerffer, T.S. (1974).** Carcass composition and

weight gain response of rats fed various carbohydrates at two dietary levels of carbohydrate and protein. *Nutr. Metab.* **17**: 47-54.

Macrae, A.R.; Slinger, S.J.; Neudoerffer, T.S. (1974). Studies on carbohydrate digestibility and weight gain response in rats fed dietary sucrose, glucose or fructose. *Nutr. Metab.* **17**: 37-46.

Mann, J.I.; Truswell, A.S. (1972). Effects of isocaloric exchange of dietary sucrose and starch on fasting serum lipids, postprandial insulin secretion and alimentary lipaemia in human subjects. *Br. J. Nutr.* **27**: 395-405.

Mann, J.I.; Truswell, A.S.; Pimstone, B.L. (1971). The different effects of oral sucrose and glucose on alimentary lipaemie. *Clin. Sci.* **41**: 123-129.

Manocchio, I. (1960). Metachromastische färbung der A-zellen in pankreasinseln von Canis Familiaris. *Zentral Bl. Pathol. Anat.* **101**: 1-4.

Mardlaw, G.M.; Insel, P.M. (1993). Lipids. En: Perspectives in Nutrition. (ed) Smith, J.M. edn. 2. Mosby. pp. 101-137.

Marohama, Y.; Macdonald, I. (1972). Some changes in the triglyceride metabolism of rats on high sucrose or glucose diets. *Metabolism.* **21**: 835-842.

Marsh, J.B.; Topping, D.L.; Nestel, P.J. (1987). Comparative effects of dietary fish oil and carbohydrate on plasma lipids and hepatic activities of phosphatidate phosphohydrolase, diacylglycerol acyltransferase and neutral lipase activities in the rat. *Biochim. Biophys. Acta* **922**: 239-243.

Marshall, M.W.; Hildebrand, H.E.; Munson, A.W.; Womack, M. (1969). Effects of type and levels of carbohydrates and proteins on carcass composition of adult rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **132**: 227-232.

Masse, J. (1993). Serum lipid concentrations and trans-fatty acid intake. *Am. J. Clin. Nutr.* **57**: 946-947.

Mathé, D.; Riottot, M.; Rostaqui, N.; Sacquet, E.; Navarro, N.; Lécuyer, B.; Lutton, C. (1993). Effect of amylo maize starch on plasma lipoproteins of lean and obese Zucker rats. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **14**: 17-24.

Mattson, F.H.; Grundy, S.M. (1985). Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J.*

Lipid Res. **26**: 194-202.

Mazur, A.; Gueux, E.; Felgines, C.; Bayle, D.; Nassir, F.; Demigne, C.; Remesy, C. (1992). Effects of dietary fermentable fiber on fatty acid synthesis and triglyceride secretion in rats fed fructose-based diet: studies with sugar-beet fiber. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **199**: 345-350.

Mazur, A.; Remesy, C.; Gueux, E.; Levrat, M.A.; Demigne, C. (1990). Effects of diets rich in fermentable carbohydrates on plasma lipoprotein levels and on lipoprotein catabolism in rats. *J. Nutr.* **120**: 1037-1045.

McArthur, L.H.; Kelly, W.F.; Gietzen, D.W.; Rogers, Q.R. (1993). The role of palatability in the food intake response of rats fed high-protein diets. *Appetite* **20**: 181-196.

McComb, R.; Bowers, J.G.; Posen, S. (1979). Alkaline phosphatase. En: Plenum Press. pp. 787-850. Nueva York.

McDonald, R.B. (1990). Effect of age and diet on glucose tolerance in Sprague-Dawley rats. *J. Nutr.* **120**: 598-601.

McGee, C.D.; Greenwood, C.E. (1990). Protein and carbohydrate respond to changes in dietary saturated fatty acids but not to changes in essential fatty acids. *Life Sci.* **47**: 67-76.

Mcmanus, J.F.A. (1948). Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature* **15**: 202.

McRae, A.R.; Slinger, S.J.; Neudoerffer, T.S. (1974). Studies on carbohydrate digestibility and weight gain response in rats fed dietary sucrose, glucose or fructose. *Nutr. Metab.* **17** **37**: 37-46.

Meijer, G.W.; Beynen, A.C. (1988). Interrelated effects of type of dietary fat and carbohydrate on cholesterol metabolism in rats. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* **58**: 241-245.

Mela, D.J.; Cohen, R.S.; Kris-etherton, P.M. (1987). Lipoprotein metabolism in a rat model of diet-induced adiposity. *J. Nutr.* **117**: 1655-1662.

Menon, K.K.G.; Mulky, M.J.; Mani, V.V.S. (1989). Nutritional and toxicological aspects of uncommon edible oils. En: The role of fats in human nutrition. (eds) Vergroesen, A.J.; Crawford, M. edn. 2. Academic Press. pp. 408-439.

Mensink, R.P.; Katan, M.B. (1987). Effect of monounsaturated fatty acids versus complex carbohydrates on high-density lipoproteins in healthy men and women. *Lancet* **17**: 122-125.

- Mensink, R.P.; Zock, P.L.; Katan, M.B.; Hornstra, G. (1992).** Effect of dietary cis and trans fatty acids on serum lipoprotein[a] levels in humans. *J. Lipid Res.* **33**: 1493-1501.
- Merkens, L.S.; Tepperman, H.M.; Tepperman, J. (1980).** Effects of short-term dietary glucose and fructose on rat serum triglyceride concentration. *J. Nutr.* **110**: 982.
- Meyer-sabellek, W.; Sinha, P.; Kottgen, E. (1988).** Review alkaline phosphatase. Laboratory and clinical implications. *J. Chromatography* **429**: 419-444.
- Michaelis IV O.E., ; Ellwood, K.C.; Judge, J.M.; Schoene, N.W.; Hansen, C.T. (1984).** Effect of dietary sucrose on the SHR/N-corpulent rat: a new model for insulin-independent diabetes. *Am. J. Clin. Nutr.* **39**: 612-618.
- Michaelis IV, O.E.; Ellwood, K.C.; Hallfrisch, J.; Hansen, C.T. (1983).** Effect of dietary sucrose and genotype on metabolic parameters of a new strain of genetically obese rat: LA/N corpulent. *Nutr. Res.* **3**: 217-228.
- Michaelis IV, O.E.; Ellwood, K.C.; Tulp, O.L.; Greenwood, M.R. (1981).** Effect of feeding sucrose on starch diets on parameters of glucose tolerance in the LA/N corpulent rat. *Nutr. Res.* **6**: 95-99.
- Michaelis IV, O.E.; Scholfield, D.J.; Gardner, L.B.; Cataland, S. (1980).** Metabolic responses of Zucker fatty and lean rats fed carbohydrate diets ad libitum or in meals. *J. Nutr.* **110**: 1409-1420.
- Michaelis IV, O.E.; Scholfield, D.J.; Nace, C.S.; Reiser, S. (1978).** Demonstration of the disaccharide effect in nutritionally stressed rats. *J. Nutr.* **108**: 919-925.
- Miethke, H.; Wittig, B.; Nath, A.; Zierz, S.; Jungermann, K. (1985).** Metabolic zonation in liver of diabetic rats. Zonal distribution of phosphoenolpyruvate carboxykinase, pyruvate kinase, glucose-6-phosphatase and succinate dehydrogenase. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **366**: 493-501.
- Mikami, M. (1986).** Clinical significance of serum glutamic dehydrogenase/GTP ratio in various liver diseases. *Tokio Jikeikai Med. J* **101**: 921-930.
- Miller, G.J.; Miller, N.E. (1975).** Plasma high density lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease. *Lancet* **1**: 16-19.
- Miller, N.E.; Forde, O.H.; Thelle, D.S.; Mjoj, D.D. (1977).** The tromso heart-study. High density lipoprotein and coronary heart-disease: a prospective case-control study. *Lancet* **1**: 925.

- Mimouni, V.; Christiansen, E.N.; Blond, J.P.; Ulmann, L.; Poisson, J.P.; Bezard, J. (1991). Elongation and desaturation of araquidonic and eicosapentenoic acids in rat liver. Effect of clofibrate feeding. *Biochim. Biophys. Acta* **1086**: 349-353.
- Miño, G.; Lopez, F. (1985). Diagnóstico de las enfermedades hepatobiliares. Ictericias. En: Atlas de Hepatología y Gastroenterología. EMISA. pp. 7-30. Madrid.
- Mohan, P.F.; Phillips, F.C.; Cleary, M.P. (1991). Metabolic effects of coconut, safflower, or menhadem oil feeding in lean and obese Zucker rats. *Br. J. Nutr.* **66**: 285-299.
- Moncada, S.; Gonzalez, G.; Perez, R.; Menes, A. (1987). Some clinical and epidemiologic aspects of hepatic steatosis. *Rev. Cubana Med.* **26**: 249-255.
- Monsma, C.C.; Ney, D.M. (1993). Interrelationship of stearic acid content and triacylglycerol composition of lard, beef tallow and cocoa butter in rats. *Lipids* **28**: 539-547.
- Monte, M.J.; Badia, M.D.; Palomero, F.; El-Mir, M.Y.; Alonso, J.R.; Marin, G.J.J. (1993). Effects of selective zonal injury on bile acid-induced bile flow in the isolated rat liver. *Am. J. Physiol.* **264**: G1103-G1111.
- Moreno, S.D. (1993). La enfermedad hepática secundaria a la obesidad. *Medicina Integral* **21**: 347-352.
- Morley, J.E. (1990). Appetite regulation by gut peptides. *Ann. Rev. Nutr.* **10**: 383-395.
- Morrison, W.R.; Smith, L.M. (1964). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J. Lipid Res.* **5**: 600-607.
- Morrissey, R.B.; Brent, M.S.; White, D.M.; Tarka, S.M. (1986). Subchronic effects of feeding graded levels of cocoa butter to rats. *Nutr. Res.* **6**: 319-326.
- Mortimer, B.C.; Kenrick, M.A.; Holthouse, D.J.; Stick, R.V.; Redgrave, T.G. (1992). Plasma clearance of model lipoproteins containing saturated and polyunsaturated monoacylglycerols injected intravenously in the rat. *Biochim. Biophys. Acta* **1127**: 67-73.
- Mueller, M.A.; Cleary, M.P.; Kritchevsky, D. (1983). Influence of dietary fibre on lipid metabolism in meal-fed rats. *J. Nutr.* **113**: 2229-2238.
- Murphy, M.C.; Puddicombe, S.M.; Morgan, L.M.; Williams, C.M. (1993). The effect of

dietary fatty acid composition on mRNA for lipoprotein lipase in the rat. *Proc. Nutr. Soc.* **52**: 49A.

Mustad, V.A.; Kris-etherton, P.M.; Derr, J.; Reddy, C.C.; Pearson, T.A. (1993). comparison of the effects of diets rich in stearic acid versus myristic and lauric acid on platelet fatty acids and excretion of thromboxane A2 and PGI2 metabolites in healthy young men. *Metabolism* **42**: 463-469.

Nagai, H.; Yakuo, I.; Yamada, H.; Shimazawa, T.; Koda, A.; Niu, K.; Assano, K.; Shimizu, T.; Kasahara, M. (1988). Liver injury model in mice for immunopharmacological study. *Jpn. J. Pharmacol.* **46**: 247-254.

Nagata, Y.; Chen, J.; Cooper, A.D. (1988). Role of low density lipoprotein receptor-dependent and -independent sites in binding and uptake of chylomicron remnants in rat liver. *J. Biol. Chem.* **263**: 15151-15158.

Naim, M.; Brand, J.G.; Kare, M.R.; Carpenter, R.G. (1985). Energy intake, weight gain and fat deposition in rats fed flavored, nutritionally controlled diets in a multichoice (cafeteria) desing. *J. Nutr.* **115**: 1447-1458.

Narce, M.; Poisson, J.P.; Belleville, J.; Chanussot, B. (1988). Time-course of protein malnutrition on hepatic fatty acids and delta-5 and delta-6 desaturation in the growing rat. *Br. J. Nutr.* **60**: 389-402.

Narce, M.; Poisson, J.P.; Belleville, J.; Chanussot, B. (1992). Depletion of delta-9-desaturase (EC 1.14.99.5) enzyme activity in growing rat during dietary protein restriction. *Br. J. Nutr.* **68**: 627-637.

Nassir, F.; Mazur, A.; Felgines, C.; Rayssiguier, Y. (1993). Aged-related response to dietary fructose in the rat: discrepancy in triglyceride and apolipoprotein B synthesis as possible mechanism for the fatty liver induction in adults rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **204**: 180-183.

Nauck, M.; Wolffe, D.; Katz, N.; Jungermann, K. (1981). Modulation of the glucagon-dependent induction of phosphoenol pyruvate carboxykinase and tyrosine aminotransferase by arterial and venous oxygen concentrations in hepatocyte cultures. *Eur. J. Biochem.* **119**: 657-661.

Naughton, J.M.; Sinclair, A.J.; O'Dea, K.; Steel, M.S. (1988). Effects of dietary butter enrichment on the fatty acid distribution of phospholipid fractions isolated from rat platelets and aortae. *Biochim. Biophys. Acta* **962**: 166-172.

- Neat, C.E.; Thomassen, M.S.; Osmundsen, H. (1980). Effects of high-fat diets on hepatic fatty acid oxidation in the rat. *Biochem. J.* **196**: 149-159.
- Nelson, G.J. (1992). Dietary fatty acids and lipids metabolism. En: Fatty acids in foods and their health implications. (ed) Chow, C.K. edn. 1. Marcel Dekker. pp. 437-472. Nueva York.
- Nelson, G.J.; Kelley, D.S.; Schmidt, P.C.; Serrato, C.M. (1987a). The influence of dietary fat on the lipogenic activity and fatty acid composition of rat white adipose tissue. *Lipids* **22**: 338-344.
- Nelson, G.J.; Kelley, D.S.; Schmidt, P.C.; Serrato, C.M. (1987b). The effects of fat-free, saturated and polyunsaturated fat diets on rat liver and plasma lipids. *Lipids* **22**: 88-94.
- Nestel, P.J.; Noakes, M.; Belling, G.B. (1992). Plasma lipoprotein lipid and Lp(a) changes with substitution of elaidic acid for oleic acid in the diet. *J. Lipid Res.* **33**: 1029-1036.
- Ney, D.M. (1991). Symposium: The role of the nutritional and health benefits in the marketing of dairy products. *J. Dairy Sci.* **74**: 4002-4012.
- Ney, D.M.; Lai, H.C.; Lasekan, J.B.; Lefevre, M. (1991). Interrelationship of plasma triglycerides and HDL size and composition in rats fed different dietary saturated fats. *J. Nutr.* **121**: 1311-1322.
- Ney, D.M.; Yang, H.; Rivera, J.; Lasekan, J.B. (1993). Total parenteral nutrition containing medium- vs. long-chain triglyceride emulsions elevates plasma cholesterol concentrations in rats. *J. Nutr.* **123**: 883-892.
- Niewoehner, C.B. (1986). Metabolic effects of dietary versus parenteral fructose. *J. Am. Coll. Nutr.* **5**: 443-450.
- Niewoehner, C.B.; Gilboe, D.P.; Nuttall, F.Q. (1984). Metabolic effects of oral glucose in the liver of fasted rats. *Am. J. Physiol.* **246**: E89-E94.
- Niewoehner, C.B.; Gilboe, D.P.; Nuttall, G.A.; Nuttall, F.Q. (1984). Metabolic effects of oral fructose in the liver of fasted rats. *Am. J. Physiol.* **247**: E505-E512.
- Nikkila, E.A.; Kuusi, T.; Harno, K.; Tikkanen, M.; Taskinen, M.R. (1980). Lipoprotein lipase and hepatic endothelial lipase are key enzymes in the metabolism of plasma high density lipoproteins particularly of HDL₂. En: Atherosclerosis. (eds) Gotto, A.M.; Smith, L.M.; Allen, B.



Springer-Verlay. pp. 387-392.

Nikkila, E.A.; Kuusi, T.; Taskinen, M.R. (1982). Role of lipoprotein lipase and hepatic endothelial lipase in the metabolism of high density lipoprotein: a novel concept of cholesterol transport in HDL cycle. En: *Metabolic risk factors in ischemic cardiovascular disease.* (eds) Carlson, L.A.; Pernow, B. Raven Press. pp. 205-215.

Nikkila, E.A.; Kuusi, T.; Taskinen, M.R.; Tikkanen, M. (1984). Regulation of lipoprotein metabolism by endothelial lipolytic enzymes. En: *Treatment of hyperlipidaemias.* (eds) Carlson, L.A.; Olsson, A.G. Raven Press. pp. 77-84.

Nikkila, E.A.; Ojala, K. (1965). Induction of hypertriglyceridemia in the rat. *Life Sci.* **4:** 937-943.

Nikkila, E.A.; Taskinen, M.R.; Kekki, M. (1978). Relation of plasma high density lipoprotein cholesterol to lipoprotein lipase activity in adipose tissue and skeletal muscle of man. *Atherosclerosis* **29:** 497-501.

Nilsson, A.; Thomassen, M.S.; Christiansen, E.N. (1984). Long-chain acyl-CoA levels in liver from rats fed high-fat diets: Is it of significance for an increased peroxisomal beta-oxidation? *Lipids* **19:** 187-194.

Nishina, P.M.; Verstuft, J.; Paigen, B. (1990). Syntetic low and high fat diets for the study of atherosclerosis in the mouse. *J. Lipid Res.* **31:** 859-870.

Noguchi, T.; Iritani, N.; Tanaka, T. (1992). Molecular mechanism of induction of key enzymes related to lipogenesis. *P. S. E. B. M.* **200:** 206-209.

Norum, K.R (1992). Dietary fat and blood lipids. *Nutr. Rev.* **2:** 30-37.

Norum, K.R; Berg, T.; Helgerud, P.; Drevon, C.A. (1983). Transport of cholesterol. *Physiol. Rev.* **63:** 1343-1419.

Norum, K.R; Christiansen, E.N.; Christophersen, B.O.; Bremer, J. (1989). Metabolic and nutritional aspects of long-chain fatty acids of marine origin. En: *The role of fats in human nutrition.* (eds) Vergroesen, A.J.; Crawford, M. edn. 2. Academic Press. pp. 118-149.

Nossen, J.O.; Rustan, A.C.; Gloppstad, S.H.; Málbakken, S.; Debron, C.A. (1986). Eicosapentaenoic acid inhibits synthesis and secretion of triacylglycerols by cultured rat hepatocytes. *Biochim. Biophys. Acta* **879:** 56-65.

- Novikoff, A.B. (1959). Cell heterogeneity within the hepatic lobule of the rat (staining reactions). *J. Histochem. Cytochem.* **7**: 240-244.
- Nuber, R.; Teutsch, H.F.; Sasse, D. (1980). Metabolic zonation in thioacetamide-induced liver cirrhosis. *Histochemistry* **69**: 277-288.
- Nussbaum, M.S.; Fischer, J.E. (1991). Pathogenesis of hepatic steatosis during total parenteral nutrition. *Surg. Annu.* **23 Pt 2**: 1-11.
- Nussbaum, M.S.; Li, S.; Bower, R.H.; McFadden, D.W.; Dayal, R.; Fischer, J.E. (1992). Addition of lipid to total parenteral nutrition prevents hepatic steatosis in rats by lowering the portal venous insulin/glucagon ratio. *J. Parenter. Enteral Nutr.* **16**: 106-109.
- Ohmura, E.; Amano, N.; Aoyama, Y.; Yoshida, A. (1992). The effect of a histidine-excess diet on cholesterol synthesis and degradation in rats. *Lipids* **27**: 755-760.
- Ohmura, E.; Aoyama, Y.; Yoshida, A. (1986). Changes in lipids in liver and serum of rats fed a histidine-excess diet or cholesterol-supplemented diets. *Agric. Biol. Chem.* **51**: 671-681.
- Olefsky, J.M.; Farquhar, J.W.; Reaven, G.M. (1974). Reappraisal of the role of insuline hypertriglyceridemia. *Am. J. Med.* **57**: 551.
- Ontko, J.A.; Wang, C. (1989). Elevation of liver diacylglycerols and molecular species of diacylglycerols in rats fed a lipogenic diet. *J. Lipid Res.* **30**: 691-699.
- Opstvedt, J.; Pettersen, J.; Mork, S.J. (1988). Trans fatty acids. 1. Growth, fertility organs weights and nerve histology and conduction velocity in sows and offspring. *Lipids* **23**: 713-719.
- Oscai, L.B.; Brown, M.M.; Miller, W.C. (1984). Effect of dietary fat on food intake, growth and body composition in rats. *Growth* **48**: 415-424.
- Oscai, L.B.; Miller, W.C.; Arnall, D.A. (1987). Effects of dietary sugar and of dietary fat on food intake and body fat content in rats. *Growth* **51**: 64-73.
- Osmundsen, H.; Bremer, J.; Pedersen, J.I. (1991). Metabolic aspects of peroxisomal β -oxidation. *Biochimie* **1085**: 141-158.
- Otto, D.A.; Baltzell, J.K.; Wooten, J.T. (1992). Reduction in triacylglycerol levels by fish oil correlates with free fatty acid levels in ad libitum fed rats. *Lipids* **227**: 1013-1017.

Otto, D.A.; Tsai, C.E.; Baltzell, J.K.; Wooten, J.T. (1991). Apparent inhibition of hepatic triacylglycerol secretion, independent of synthesis, in high-fat oil-fed rats: role for insulin. *Biochim. Biophys. Acta* **1082**: 37-48.

Öner, P.; Beknıpar, S.; Öz, B. (1991). Alterations in some lipid components and Ca ATPase activity in brain of rats fed an atherogenic diet. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* **72**: 373-345.

Page, A. (1993). Acıdes gras, cholesterol alimentaire et maladies coronariennes. En: *Alimentation et maladies coronariennes.* (ed) Page, A. Masson. pp. 67-87. paris.

Palacin-Prieto, P.M. (1991). Zonación hepática y heterogeneidad bioquímica de los hepatocitos. En: *Bioquímica. Aspectos estructurales y vías metabólicas.* (ed) Herrera, E. edn. 1. Interamericana*McGraw-Hill. pp. 1401-1420. Madrid.

Pan, J.; Berdanier, C.D. (1991). Dietary fat saturation affects glucose metabolism affecting insulin receptor number and affinity in adipocytes from BHE rats. *J. Nutr.* **121**: 1811-1819.

Pan, J.; Berdanier, C.D. (1991). Dietary fat saturation affects hepatocyte insulin binding and glucose metabolism in BHE rats. *J. Nutr.* **121**: 1820-1826.

Parrish, C.C.; Pathy, D.A.; Parkes, J.G.; Angel, A. (1991). Dietary fish oils modify adipocyte structure and function. *J. Cell. Physiol.* **148**: 493-502.

Pastor, I.; Laso, F.J. (1983). Exploración funcional del hígado. *Gastrum.* **Ab-2**: 32-39.

Patsch, J.R.; Gotto, A.M.; Olivecrona, T. (1978). Formation of high density lipoprotein like particles during lipolyses of very low density lipoproteins in vitro. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **75**: 4519-4523.

Patsch, W.; Kim, K.; Wiest, W.; Schonfeld, G. (1980). Effects of sex hormones on rat lipoproteins. *Endocrinology* **107,4**: 1085-1094.

Paulin, A.; Deshaies, Y. (1992). Serum free fatty acids are not involved in acute exercise-induced reduction of LPL in rat tissues. *Am. J. Physiol.* **262**: E377-E382.

Pearce, J. (1983). Fatty acid synthesis in liver and adipose tissue. *Proc. Nutr. Soc.* **42**: 263-271.

Periago, J.L.; Lucchi, C.de; Gil, A.; Suárez, M.D.; Pita, M.L. (1988). Lipid composition of

liver microsomes in rats fed a high monounsaturated fatty acid diets. *Biochim. Biophys. Acta* **962**: 66-72.

Pettersen, J.; Opstvedt, J. (1992). Trans fatty acids. 5. Fatty acid composition of lipids of the brain and other organs in suckling piglets. *Lipids* **27**: 761-769.

Pfeuffer, M.; Barth, C.A. (1992). Dietary sucrose but not starch promotes protein-induced differences in rates of VLDL secretion and plasma lipid concentrations in rats. *J. Nutr.* **122**: 1582-1586.

Phetterplace, H.; Watkins, B.A. (1989). Effects of various n-3 lipids sources on fatty acid composition in chicken tissues. *J. Food. Sci.* **2**: 104-117.

Plomp, P.J.A.M.; Roerdmund van, C.W.T.; Groen, A.K. (1985). Mechanism of the stimulation of respiration by fatty acids in rat liver. *FEBS Lett.* **193,2**: 243-246.

Podolsky, D.K.; Isselbacher, K.J. (1986). Trastornos del metabolismo hepático. En: Harrison. Principios de Medicina Interna. (eds) Isselbacher, K.; Braunwald, E.; Petersdorf, G.; Martin, J.; Raymon, D.; Wilson, J. edn. 6. McGraw-Hill. pp. 2477-2486. México.

Poisson, J.P.; Dupuy, R.P.; Sarda, P.; Descomps, B. (1993). Evidence that liver microsomes of human neonates desaturate essential fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* **1167**: 109-113.

Pooper, H.; Orr, W. (1970). Currents concepts in cirrhosis. *Am. J. Gastroenterol.* **6**: 203-222.

Porikos, K.P.; Van itallie, T.B. (1983). Diet-induced changes in serum transaminase and triglyceride levels in healthy adult men. Role of sucrose and excess calories. *Am. J. Med.* **75**: 624-630.

Portman, O.W.; Lawrey, E.Y.; Bruno, D. (1956). Effect of dietary carbohydrate on experimentally induced hypercholesterolemia and hyperlipoproteinemia in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **91**: 321.

Privett, O.S.; Nutter, L.J.; Lightly, F.S. (1966). Metabolism of trans acids in the rat: Influence of the geometric isomers of linoleic acid on the structure of liver triglycerides and lecithins. *J. Nutr.* **89**: 257-264.

Purdom, M.E.; Mondragon, N.H.; Prior, W.W.; Gracy, R.W. (1972). Effect of carbohydrates on growth, plasma proteins and liver anzymes. *J. Am. Dietetic Assoc.* **60**: 394-398.

- Quarfordt, S.; Hank, J.; Jones, R.S.; Shelburne, F. (1980). The uptake of high density lipoprotein cholesteryl ester in the perfused rat liver. *J. Biol. Chem.* **255**: 2934-2937.
- Quarfordt, S.H.; DeFaria, E.; Landis, B.A.; Bollinger, R.R.; Yamaguchi, Y. (1991). Transport of free fatty acid and triglyceride in anhepatic rats. *Hepatology* **14**: 911-919.
- Quarfordt, S.H.; Oswald, B.S.; Landis, B.A.; DeFaria, E.; Yamaguchi, Y. (1991). Rat plasma cholesterol after particulate triacylglycerol clearance. *Biochim. Biophys. Acta* **1082**: 247-250.
- Qureshi, R.U.; Akinyanju, P.A.; Yudkin, J. (1970). The effect of an atherogenic" diet containing starch or sucrose upon carcass composition and plasm lipids in the rat. *Nutr. Metab.* **12**: 347-357.
- Radziuk, J.; Macdonald, T.J.; Rubenstein, D.; Dupre, J. (1978). Initial splanchnic extraction of ingested glucose in normal man. *Metabolism.* **27**: 657-669.
- Ramirez, I. (1987). When does sucrose increase appetite and adiposity? *Appetite* **9**: 1-19.
- Ramirez, I. (1990). Does dietary hyperphagia contradict the lipostatic theory? *Neurosci. Biobehav. Rev.* **14**: 117-123.
- Ramirez, I. (1992). Chemoreception for fat: do rats sense triglycerides directly? *Appetite* **18**: 193-206.
- Ramirez, I. (1992). Is starch flavor unitary? Evidence from studies of cooked starch. *Physiol. Behav.* **52**: 535-540.
- Ramirez, I. (1993). Rats discriminate between starch and other substances having a similar texture. *Physiol. Behav.* **53**: 373-377.
- Ramirez, I. (1993). Relative preference for starch and sugar in rats. *Physiol. Behav.* **54**: 1195-1200.
- Ramirez, I. (1994). Flavor preferences conditioned with starch in rats. *Ani. Learning Behav.* **22**: 181-187.
- Ramirez, I.; Friedman, M.I. (1990). Dietary hyperphagia in rats: Role of fats, carbohydrate, and energy content. *Physiol. Behav.* **47**: 1157-1163.

- Rappaport, A.M.** (1960). Betrachtungen zur pathophysiologie der leber-struktur. *Klin. Wochenschr.* **38**: 561-577.
- Raubenheimer, D.; Simpson, S.J.** (1992). Analysis of covariance: an alternative to nutritional indices. *Entomol. exp. appl.* **62**: 221-231.
- Rayner, D.V.** (1992). Gastrointestinal satiety in animals other than man. *Proc. Nutr. Soc.* **51**: 1-6.
- Redard, C.L.; Davis, P.A.; Middleton, S.J.; Shneeman, B.O.** (1992). Postprandial lipid response following a high fat meal in rats adapted to dietary fiber. *J. Nutr.* **122**: 219-228.
- Reeves, P.G.; Nielsen, F.H.; Fahey, G.C.** (1993). AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* **123**: 1939-1951.
- Reilly, F.D.; McCuskey, A.P.; McCuskey, R.S.** (1978). Intrahepatic distribution of nerves in the rat. *Anat. Rec.* **191**: 55-67.
- Reiser, S.; Bickard, M.C.; Hallfrisch, J.; Michaelis IV, O.E.; Prather, E.S.** (1981). Blood lipids and their distribution in lipoproteins in hyperinsulinemic subjects fed three different levels of sucrose. *J. Nutr.* **111**: 1045.
- Reiser, S.; Hallfrisch, J.; Michaelis IV, O.E.; Lazar, F.L.; Martin, R.E.; Prather, E.S.** (1979). Isocaloric exchange of dietary starch and sucrose in humans. I. Effects on levels of fasting blood lipids. *Am. J. Clin. Nutr.* **32**: 1659-1669.
- Reiser, S.; Hallfrisch, J.; Putney, J.; Lev, F.** (1977). Enhancement of intestinal sugar transport by rats fed sucrose as compared to starch. *Nutr. Metab.* **20**: 461-470.
- Reiser, S.; Michaelis IV, O.E.; Putney, J.; Hallfrisch, J.** (1975). Effect of sucrose feeding on the intestinal transport of sugars in two strains of rats. *J. Nutr.* **105**: 894-905.
- Reussner, G.; Andros, J.; Thiessen, R.** (1963). Studies on the utilization of various starches and sugars in the rat. *J. Nutr.* **80**: 291-298.
- Ribeiro, A.; Mangeney, M.; Cardot, P.; Loriette, C.; Chambaz, J.; Rayssiguier, Y.; Bereziat, G.** (1992). [Nutritional regulation of apolipoprotein genes. Effect of dietary carbohydrates and fatty acids]. *Diabete. Metab.* **18**: 137-144.
- Ribeiro, A.; Mangeney, M.; Cardot, P.; Loriette, C.; Rayssiguier, Y.; Chambaz, J.;**

- Bereziat, G. (1991).** Effect of dietary fish oil and corn oil on lipid metabolism and apolipoprotein gene expression by rat liver. *Eur. J. Biochem.* **196**: 499-507.
- Ritter, M.M.; Richter, W.O. (1992).** Trans-fatty acids and lipids. *Fortschr. Med.* **110**: 205-207.
- Rivera-Coll, A.; Fuentes-Arderiu, X.; Diez-Noguera, A. (1993).** Circadian rhythms of serum concentrations of 12 enzymes of clinical interest. *Chronobiol. Int.* **10**: 190-200.
- Romert, P.; Quistorff, B.; Behnke, O. (1993).** Histological evaluation of the zonation of colloidal gold uptake by the rat liver. *Tissue & Cell* **25**: 19-32.
- Romsos, D.R.; Leveille, G.A. (1974).** Effect of dietary fructose on in vitro and in vivo fatty acid synthesis in the rat. *Biochim. Biophys. Acta* **360**: 1-11.
- Ronneberg, R.; Holmer, G.; Lambertsen, G. (1987).** Comparative metabolism of erucic and oleic acid in hepatocytes from rats fed partially hydrogenated marine oil or palm oil. *Ann. Nutr. Metab.* **31**: 160-169.
- Rothstein, G.; Lee, G.R.; Cartwright, G.E. (1969).** Sideroblastic anemia with dermal photosensitivity and greatly increased erythrocyte protoporphyrin. *N. Engl. J. Med.* **280**: 587.
- Rubin, M.; Halpern, Z.; Livoff, A.; Wennberg, A.; Tietz, A.; Antebi, E.; Lichtenberg, D. (1992).** The effect of short-term lipid infusion on liver function and biliary secretion in rats. *Lipids* **27**: 321-325.
- Rudel, L.L.; Haines, J.L.; Sawyer, J.K. (1990).** Effects on plasma lipoproteins of monounsaturated, saturated, and polyunsaturated fatty acids in the diet of african green monkeys. *J. Lipid Res.* **31**: 1873-1882.
- Ruiz-Gutiérrez, V.; Molina, M.T.; Vázquez, C.M. (1990).** Comparative effects of feeding different fats on fatty acid composition of major individual phospholipids of rats hearts. *Ann. Nutr. Metab.* **34**: 350-358.
- Rustan, A.C.; Christensen, E.; Drevon, C.A. (1992).** Serum lipids, hepatic glycerolipid metabolism and peroxisomal fatty acid oxidation in rats-fed omega-3 and omega-6 fatty acids. *Biochem. J.* **283**: 333-339.
- Rutten, A.A.J.J.C.; Falke, H.E. (1987).** Influence of high dietary levels of fats on rat hepatic phase I and II biotransformation enzyme activities. *Nutr. Rep. Int.* **36**: 1.

- Saito, M.; Oh-Hashi, A.; Kubota, M.; Nishide, E.; Yamaguchi, M. (1990). Mixed function oxidases in response to different types of dietary lipids in rats. *Br. J. Nutr.* **63**: 249-257.
- Salmon, C.; Rochant, H.; Mannoni, P.; Cartron, J.P.; Jacquet, A.; Liberge, G.; Dreyfus, B. (1969). Studies of modifications of blood group antigens in 11 cases of "refractory anemia". *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* **9**: 113-122.
- Salmoson, E.C.; Lundstedt, C.; Holmin, T.; Hägerstrand, I. (1993). Focal periportal liver steatosis. *Abdom. Imaging* **18**: 39-41.
- Samarasinghe, D.; Tasman Jones, C. (1992). The clinical associations with hepatic steatosis: a retrospective study. *N. Z. Med. J.* **105**: 57-58.
- Sanders, T.A.B. (1988). Essential and trans-fatty acids in nutrition. *Nutr. Res. Rev.* **1**: 57-78.
- Sarda, N.; Gharib, A.; Croset, M.; Molière, P.; Lagarde, M. (1991). Fatty acid composition of the rat pineal gland. Dietary modifications. *Biochim. Biophys. Acta* **1081**: 75-78.
- Sardesai, V.M. (1992). Nutritional role of polyunsaturated fatty acids. *J. Nutr. Biochem.* **3**: 154-166.
- Sarkkinen, E.S.; Agren, J.J.; Ahola, I.; Ovaskainen, M-L.; Uusitupa, M.I.J. (1994). Fatty acid composition of serum cholesterol esters, and erythrocyte and platelet membranes as indicators of long-term adherence to fat-modified diets. *Am. J. Clin. Nutr.* **59**: 364-370.
- Satabin, P.; Bois Joyeux, B.; Chanez, M.; Guezennec, C.Y.; Peret, J. (1989). Effects of long-term feeding of high-protein or high-fat diets on the response to exercise in the rat. *Eur. J. Appl. Physiol.* **58**: 583-590.
- Scagnelli, G.P.; Cooper, P.S.; VandenBroek, J.M.; Berman, W.F.; Schwartz, C.C. (1991). Plasma 1-palmitoyl-2-linoleoyl phosphatidylcholine. Evidence for extensive phospholipase A1 hydrolysis and hepatic metabolism of the products. *J. Biol. Chem.* **266**: 18002-18011.
- Scalera, G. (1992). Taste preferences, body weight gain, food and fluid intake in singly or group-housed rats. *Physiol. Behav.* **52**: 935-943.
- Schaefer, E.J. (1984). Clinical, biochemical and genetic features in familial disorders of high density lipoprotein deficiency. *Arteriosclerosis* **4**: 303-322.
- Schaefer, E.J.; Levy, R.; Ernest, N.D.; Van sant, F.D.; Brewer, H.B. (1981). The effect of

low cholesterol, high polyunsaturated fat and low fat diets on plasma lipid and lipoprotein cholesterol levels in normal and hypercholesterolemic subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **34**: 1758-1763.

Schalinske, K.L.; Steele, R.D. (1993). 13-cis-retinoic acid and hepatic steatosis in rats. *Biochem. Pharmacol.* **46**: 319-325.

Schettler, G.; Nüssel, E. (1975). *Arbeitsmed. Sozialmed. Präventvmed.* **10**: 25.

Schmidt, U.; Schmid, H.; Guder, W. (1978). Liver cell heterogeneity: the distribution of fructose-bis-phosphatase in fed and fasted rats and in man. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **359**: 193-198.

Schrijver, R.de; Privett, O.S. (1982b). Interrelationship between dietary trans fatty acids and the 6-and 9-desaturases in the rat. *Lipids* **17**: 27-34.

Schrijver, R.de; Privett, O.S. (1982a). Effects of dietary long-chain fatty acids on the biosynthesis of unsaturated fatty acids in the rat. *J. Nutr.* **112**: 619-626.

Schrijver, R.de; Privett, O.S. (1983). Hepatic fatty acids and acyl desaturases in rats: Effects of dietary carbohydrates and essential fatty acids. *J. Nutr.* **113**: 2217-2222.

Schrijver, R.de; Vermeulen, D.; Daems, V. (1992). Dose-response relationship between dietary (n-3) fatty acids and plasma and tissue lipids, steroid excretion and urinary malondialdehyde in rats. *J. Nutr.* **122**: 1979-1987.

Schroeder, H.A.; Balassa, J.J. (1965). Influence of chromium, cadmium and lead on rat aortic lipids and circulating cholesterol. *Am. J. Physiol.* **209**: 433-437.

Schulz, H. (1991). Beta oxidation of fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* **1081**: 109-120.

Sclafani, A. (1973). Feeding inhibition and death produced by glucose ingestion in the rat. *Physiol. Behav.* **11**: 595-601.

Sclafani, A. (1987). Carbohydrate taste, appetite, and obesity: an overview. *Neurosci. Biobehav.* **11**: 131-153.

Sclafani, A. (1988). Carbohydrate appetite in rats: taste and postingestive factors. *Appetite* **11**: 20-25.

Sclafani, A. (1991). Starch and sugar tastes in rodents: an update. *Brain. Res. Bull.* **27**: 383-386.

- Sclafani, A. (1991).** Conditioned food preferences and appetite. *Appetite* **17**: 71-72.
- Sclafani, A.; Ackroff, K. (1993).** Deprivation alters rats' flavor preferences for carbohydrates and fats. *Physiol. Behav.* **53**: 1091-1099.
- Sclafani, A.; Cardieri, C.; Tucker, K.; Blusk, D.; Ackroff, K. (1993).** Intragastric glucose but not fructose conditions robust flavor preferences in rats. *Am. J. Physiol.* **265**: R320-R325.
- Sclafani, A.; Vigorito, M.; Pfeiffer, C.L. (1988).** Starch-induced overeating and overweight in rats: Influence of starch type and form. *Physiol. Behav.* **42**: 409-415.
- Sclafani, A.; Xenakis, S. (1984).** Influence of diet form on the hyperphagia-promoting effect of polysaccharide in rats. *Life Sci.* **34**: 1253-1259.
- Sclafani, A.; Xenakis, S. (1984).** Sucrose and polysaccharide induced obesity in the rats. *Physiol. Behav.* **32**: 169-174.
- Seppänen-Laakso, H.; Vanhanen, H.; Laakso, I.; Kohtamäki, H.; Viikari, J. (1992).** Replacement of butter on bread by rapeseed oil and rapeseed oil containing margarine: effects on plasma fatty acid composition and serum cholesterol. *Br. J. Nutr.* **68**: 639-654.
- Seppänen-Laakso, H.; Vanhanen, H.; Laakso, I.; Kohtamäki, H.; Viikari, J. (1993).** Replacement of margarine on bread by rapeseed and olive oils: Effects on plasma fatty acid composition and serum cholesterol. *Ann. Nutr. Metab.* **37**: 161-174.
- Seske, F.G.; Gardemann, A.; Jungermann, K. (1992).** Signal propagation via gap junctions a key step in the regulation of liver metabolism by the sympathetic hepatic nerves. *FEBS Lett.* **301**: 265-270.
- Shaw, L.M. (1983).** . *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **21**: 633-646.
- Sheldon, G.F.; Petersen, S.R.; Sanders, R. (1978).** Hepatic dysfunction during hyperalimentation. *Arch. Surg.* **113**: 504-508.
- Sheppard, K.; Herzberg, G.R. (1992).** Triacylglycerol composition of adipose tissue, muscle and liver of rats fed diets containing fish oil or corn oil. *Nutr. Res.* **12**: 1405-1418.
- Shick, J.; Verspohl, R.; Kern, H.; Scheele, G. (1984).** Two distinct adaptive responses in the synthesis of exocrine pancreatic enzymes to inverse changes in protein and carbohydrate in the

diet. *Am. J. Physiol.* **147**: 611-616.

Shillabeer, G.; Hornford, J.; Forden, J.M.; Wong, N.C.W.; Lau, D.C.W (1990). Hepatic and adipose tissue lipogenic enzyme mRNA levels are seppressed by high fat diets in rat. *J. Lipid Res.* **31**: 623-631.

Siedel, J.; Schlumberger, H.; Klose, S.; Ziegenhorn, J.; Wahlefeld, A.W. (1981). . *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **19**: 383.

Siguel, E.N.; Lerman, R.H. (1993). Trans-fatty acid patterns in patients with angiographically documented coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* **71**: 916-920.

Sjoblom, L.; Eklund, A. (1990). Dietary protein and fatty acid composition of liver lipids in the rat. *Biochim. Biophys. Acta* **1004**: 187-192.

Skipski, V.P.; Barclay, M. (1969). Thin layer chromatography of lipids. En: *Methods in enzimology.* (ed) Lowenstein, J.M. Academic Press. pp. 548-550. Nueva York y londres.

Skorve, J.; al Shurbaji, A.; Asiedu, D.; Bjorkhem, I.; Berglund, L.; Berge, R.K. (1993). On the mechanism of the hypolipidemic effect of sulfur-substituted hexadecanedioic acid (3-thiadicarboxylic acid) in normolipidemic rats. *J. Lipid Res.* **34**: 1177-1185.

Sola, R.; Baudet, M.F.; Motta, C.; Maillé, M.; Boisnier, C. (1990). Effects of dirtary fats on the fluidity of human high-density lipoprotein: influence of the overall composition and phospholipid fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* **1043**: 43-51.

Spady, D.K. (1992). hepatic clearance of plasma low density lipoproteins. *Seminars in Liver Disease* **12**: 373-385.

Spady, D.K. (1993). Regulatory effects of individual n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on LDL transport in the rat. *J. Lipid Res.* **34**: 1337-1346.

Spady, D.K.; Dietschy, J.M. (1988). Interaction of dietary cholesterol and triglycerides in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster. *J. Clin. Invest.* **81**: 300-309.

Spady, D.K.; Woollett, L.A.; Dietschy, J.M. (1993). Regulation of plasma LDL-cholesterol levels by dietary cholesterol and fatty acids. *Ann. Rev. Nutr.* **13**: 355-381.

Sparrow, C.P.; Pittman, R.C. (1990). Cholesterol esters selectively taken up from high-density lipoproteins are hydrolyzed extrasosomally. *Biochim. Biophys. Acta* **1043**: 203-210.

- Spence, J.T.; Pitot, H.C. (1982). Induction of lipogenic enzymes in primary cultures of rat hepatocytes. Relationship between lipogenesis and carbohydrate metabolism. *Eur. J. Biochem.* **128**: 15-20.
- Srinivasan, S.R.; Spahn, S.; Chiang, Y.; Radhakrishnamurthy, B.; Berenson, G.S. (1988). Influence of partial replacement of starch by sucrose in high fat-cholesterol diet on serum lipoprotein responses of Cynomolgus monkeys. *Biochem. Med. Metab. Biol.* **39**: 31-39.
- Srivastava, R.A.K.; Jiao, S.; Tang, J.; Pflieger, B.A. (1991). In vivo of low-density lipoprotein receptor and apolipoprotein B gene expressions by dietary fat and cholesterol in inbred strains of mice. *Biochim. Biophys. Acta* **1086**: 29-43.
- Stal, P.; Hulterantz, R. (1993). Iron increases ethanol toxicity in rat liver. *J. Hepatol.* **17**: 108-115.
- Stangl, G.I.; Kirchgessner, M.; Reichlmayr-Lais, A.M.; Eder, K. (1994). Serum lipids and lipoproteins from rats fed different dietary oils. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* **71**: 87-97.
- Stangl, G.I.; Reichlmayr-Lais, A.M.; Kirchgessner, M.; Eder, K. (1993). Effects of different dietary oils on liver fatty acid composition of rats. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* **70**: 207-215.
- Staub, H.W.; Reussner, G.; Thiessen, R. (1969). Serum cholesterol reduction by chromium in hypercholesterolemic rats. *Science* **166**: 746-747.
- Steel, M.S.; Naughton, J.M.; Hopkins, G.W.; Sinclair, A.J.; O'Dea, K. (1990). Effects of dietary fats on prostanoid production and aortic and plasma fatty acid composition in rats. *Lipids* **25**: 719-723.
- Steinberg, D.; Parthasarathy, S.; Carew, T.E.; Khoo, L.C.; Witztum, J.L. (1989). Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med.* **320**: 915-923.
- Stewart, J.R.; Fryer, E.B.; Fryer, H.C. (1987). Effects of dietary fiber, carbohydrate, lipid, and protein levels on serum and liver lipids in rats. *J. Nutr.* **117**: 650-659.
- Storlien, L.H.; Kraegen, E.W.; Jenkins, A.B.; Chisholm, D.J. (1988). Effects of sucrose vs starch diets on in vivo insulin action, thermogenesis, and obesity in rats. *Am. J. Clin. Nutr.* **47**: 420-427.

- Story, S.A.; Kritchevsky, D. (1976). Dietary fiber and lipid metabolism. En: Fiber in human nutrition. (eds) Spiller, G.A.; Amen, R.J. Plenum Press. pp. 171-184.
- Strum-odin, R.; Adkins-Finke, B.; Blake, W.L.; Phinney, S.D.; Clarke, S.D. (1987). Modification of fatty acid composition of membrane phospholipid in hepatocyte monolayer with n-3, n-6 and n-9 fatty acids and its relationship to triacylglycerol production. *Biochim. Biophys. Acta* **921**: 378-391.
- Stubbs, C.D.; Smith, A.D. (1984). The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. *Biochim. Biophys. Acta* **779**: 89-137.
- Subbaiah, P.V.; Liu, M.; Bolan, P.J.; Paltauf, F. (1992). Altered positional specificity of human plasma lecithin-cholesterol acyltransferase in the presence of sn-2 arachidonoyl phosphatidyl cholines. Mecanism of formation of saturated cholesteryl esters. *Biochim. Biophys. Acta* **1128**: 83-92.
- Sugano, M.; Ishida, T.; Koba, K. (1988). Protein-fat interaction on serum cholesterol level, fatty acid desaturation and eicosanoid production in rats. *J. Nutr.* **118**: 548-554.
- Sugano, M.; Ryu, K.; Ide, T. (1984). Cholesterol dynamics in rats fed cis- and trans-octadecenoate in the form of triglyceride. *J. Lipid Res.* **25**: 474-485.
- Sugano, M.; Watanabe, M.; Khono, M.; Cho, Y.J.; Ide, T. (1983). Effects of dietary trans-fat on biliary and fecal steroid excretion and serum lipoproteins in rats. *Lipids* **18**: 375-381.
- Suh, M.; Kim, H.M.; Na, H.K.; Lee, S.H.C. (1990). Effects of dietary n-3 fats on hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase and malic enzyme in rat. *Korean Biochem. J.* **23**: 395-401.
- Sundram, K.; Hayes, K.C.; Siru, O.H. (1994). Dietary palmitic acid results in lower serum cholesterol than does a lauric-myristic acid combination in normolipemic humans. *Am. J. Clin. Nutr.* **59**: 841-846.
- Sundram, K.; Hornstra, G.; Houwelingen, van A.C.; Kester, A.D.M. (1992). Replacement of dietary fat with palm oil: effect on human serum lipids, lipoproteins and apolipoproteins. *Br. J. Nutr.* **68**: 677-692.
- Surette, M.E.; whelan, J.; Broughton, K.S.; Kinsella, J.E. (1992). Evidence for mecanismos of the hypotriglyceridemic effect of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta* **1126**: 199-205.

- Swanson, J.E.; Laine, D.C.; Thomas, W.; Bantle, J.P. (1992). Metabolic effects of dietary fructose in healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **55**: 851-856.
- Swenson, E.S.; Selleck, K.M.; Babayan, V.K.; Blackburn, G.L.; Bistrrian, B.R. (1991). Persistence of metabolic effects after long-term oral feeding of a structured triglyceride derived from medium-chain triglyceride and fish oil in burned and normal rats. *Metabolism* **40**: 484-490.
- Szepesi, B. (1992). Interaction of dietary fatty acids, carbohydrates, and lipids on carbohydrate metabolism. En: Fatty acids in foods and their health implications. (ed) Chow, C.K. edn. 1. Marcel Dekker Inc.. pp. 473-499. New york.
- Sztern, M.; Harris, W. (1991). Short-term effects of fish oil on human plasma lipids levels. *J. Nutr. Biochem.* **2**: 255-259.
- Takada, R.; Saitho, M.; Mori, T. (1994). Dietary gamma-linolenic acid-enriched oil reduces body fat content and induces liver enzyme activities relating to fatty acid beta-oxidation in rats. *J. Nutr.* **124**: 496-474.
- Takayama, M.; Itoh, S.; Nagasaki, S.; Tanimizu, I. (1977). . *Clin. Chim. Acta* **79**: 93.
- Taskinen, M.R.; Nikkila, E.A. (1981). High density lipoprotein subfraction in relation to lipoprotein lipase activity of tissues in man, evidence for reciprocal regulation of HDL2 and HDL3 levels by lipoprotein lipase. *Clin. Chim. Acta* **112**: 325-332.
- Teague, R.J.; Kanarek, R.; Bray, G.A.; Glick, Z.; Orthengambill, N. (1981). Effect of diet on the weight of brown adipose tissue in rodents. *Life Sci.* **29**: 1531-1536.
- Teutsch, H.F. (1978). Quantitative determination of G6P'ase activity in histochemical defined zones of the liver acinus. *Histochemistry* **58**: 281-288.
- Tholstrup, T.; Mærckmann, P.; Jespersen, J.; Sandström, B. (1994). Fat high in stearic acid favorably effects blood lipids and factor VII coagulant activity in comparison with fats high in palmitic acid or high myristic and lauric acids. *Am. J. Clin. Nutr.* **59**: 371-377.
- Thomassen, M.S.; Christiansen, E.N.; Norum, K.R (1982). Characterization of the stimulatory effect of high-fat diets on peroxisomal beta-oxidation in the rat liver. *Biochem. J.* **206**: 195-202.
- Thomassen, M.S.; Rortveit, T.; Christiansen, E.N.; Norum, K.R (1984). Changes in the content of n-6 fatty acids in the liver phospholipids in rats as a consequence of partially

hydrogenated dietary oils. *Br. J. Nutr.* **51**: 315-322.

Thomassen, M.S.; Strom, E.; Christiansen, E.N.; Norum, K.R. (1979). Effect of marine oil and repesed oil on composition of fatty acids in lipoprotein triacylglycerols from rat blood plasma and liver perfusate. *Lipids* **14**: 58-65.

Thurman, R.G.; Kauffman, F.C. (1986). Sublobular compartmentation of pharmacologic events (SCOPE): measurement of metabolic fluxes in periportal and pericentral regions of the liver lobule with microfluorometric and micropolarographic techniques. *Hepatology* **5**: 144-151.

Tijburg, L.B.M.; Geelen, M.J.H.; Golde, van L.M.G. (1989). Regulation of the biosynthesis of triacylglycerol, phosphatidycholine and phosphatidylethanolamine in the liver. *Biochim. Biophys. Acta* **1004**: 1-19.

Timmermann, F. (1992). Medium chain triglycerides - the unconventional oil .International Conference "Oils and fats in the nineties.". *GRüNAU Abb.* **11**: 6-9.(Congreso)

Topping, D.L.; Mayes, P.A. (1982). Insulin and nonesterified fatty acids: acute regulators of lipogenesis in perfused rat liver. *Biochem. J.* **204**: 433-439.

Town, M.H.; Gehm, S.; Hammer, B.; Ziegenhorn, J. (1985). . *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **23**: 591.

Trayhurn, P. (1992). Dietary fatty acids and thermogenesis: implication for energy balace. En: Fatty acids in foods and their health implications. (ed) Chow, C.K. edn. 1st . Marcel Dekker. pp. 517-530. New York.

Trinder, P. (1969). . *Ann. Clin. Biochem.* **6**: 24.

Troisi, R.; Willett, W.C.; Weiss, S.T. (1992). Trans-fatty acid intake in relation to serum lipid concentrations in adult men. *Am. J. Clin. Nutr.* **56**: 1019-1024.

Truswell, A.S. (1994). Food carbohydrates and plasma lipids- an update. *Am. J. Clin. Nutr.* **59**: 710s-718s.

Tulikuora, I.; Huikuri, K. (1982). Morphological fatty changes and function of the liver, serum free fatty acids, and triglycerides during parenteral nutrition. *Scand. J. Gastroenterol.* **17**: 177-185.

Ulbricht, T.L.V.; Southgate, D.A.T. (1991). Coronary hearth disease:seven dietary factors.

Lancet 338: 985-992.

Uusitupa, M.I.J. (1994). Fructose in the diabetic diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 59: 753s-757s.

Vallerand, A.L.; Lupien, J.; Bukowiecki, L.J. (1986). Synergistic improvement of glucose tolerance by sucrose feeding and exercise training. *Am. J. Physiol.* 250: E607-E614.

Vamecq, J.; Vallee, L.; De la Porte, P.L.; Fontaine, M.; De Craemer, D.; Van Den Branden, C.; Lafont, H.; Grataroli, R.; Nalbone, G. (1993). Effect of various n-3/n-6 fatty acid ratio contents of high fat diets on rat liver and heart peroxisomal and mitochondrial β -oxidation. *Biochim. Biophys. Acta* 1170: 151-156.

Van Amelsvoort, J.M.M.; Van der Beek, A.; Stam, J.J. (1988b). Dietary influence on insulina function in the epididymal fat cell of the Wistar rat. II. Effect of type of carbohydrate. *Ann. Nutr. Metab.* 32: 149-159.

Van Amelsvoort, J.M.M.; Van der Beek, A.; Stam, J.J. (1988c). Dietary influence on the insulin function in the epididymal fat cell of the Wistar rat. III Effect of the ratio carbohydrate to fat. *Ann. Nutr. Metab.* 32: 160-168.

Van Amelsvoort, J.M.M.; Van der Beek, A.; Stam, J.J.; Houtsmuller, U.M.T. (1988a). Dietary influence on the insulin function in the epididymal fat cell of the wistar rat. I. Effect of type of fat. *Ann. Nutr. Metab.* 32: 138-148.

Van doormaal, J.J.; Muskiet, F.A.; Martini, I.A.; Doorenbos, H. (1987). Rapid changes in serum, plasma and erythrocyte lipid compositions, and serum transaminase levels during continuous enteral hyperalimentation by carbohydrates alone. *Metab. Clin. Exp.* 36: 1132-1140.

Van tol, A.; Van gent, T.; Jansen, H. (1980). Degradation of high density lipoprotein by heparin-releasable liver lipase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 94: 101-108.

Vance, D.E. (1990). Phosphatidylcholine metabolism: masochistic enzymology, metabolic regulation, and lipoprotein assembly. *Biochem. Cell. Biol.* 68: 1151-1165.

Vance, J.E. (1988). Compartmentalization of phospholipids for lipoprotein assembly on basis of molecular species and biosynthetic origin. *Biochim. Biophys. Acta* 963: 70-81.

Vance, J.E.; Vance, D.E. (1990). Lipoprotein assembly and secretion by hepatocytes. *Ann. Rev. Nutr.* 10: 337-356.

- Venkatraman, J.T.; Pehowich, D.; Singh, B.; Rajotte, R.V.; Thomson, A.B.; Clandinin, M.T. (1991). Effect of dietary fat on diabetes-induced changes in liver microsomal fatty acid composition and glucose-6-phosphatase activity in rats. *Lipids* 26: 441-444.
- Vergroesen, A.J. (1989). Introduction. I- Lipid-carbohydrate interactions. II- Dietary lipids and malignant tumour development. III- Essential fatty acids, biomembranes and eicosanoid metabolism. IV- Safety aspects of processed fats. V- Miscellaneous effects. En: The role of fats in human nutrition. (eds) Vergroesen, A.J.; Crawford, M. edn. 2. Academic Press. pp. 5-44.
- Vernon, A.W.; Borlakoglu, J.T. (1992). Absorption and transport of dietary lipids: effects on some lipids-related health problems. En: Fatty acids in foods and their health implications. (ed) Chow, C.K. edn. 1. Marcel Dekker. pp. 559-612. New York.
- Vernon, G.R. (1992). Effects of diet on lipolysis and its regulation. *Proc. Nutr. Soc.* 51: 397-408.
- Voss, A.; Reinhart, M.; Sprecher, H. (1992). Differences in the interconversion between 20- and 22-carbon (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acids in the rat liver. *Biochim. Biophys. Acta* 1127: 33-40.
- Voss, A.C.; Sprecher, H. (1988). Metabolism of 6,9,12-octadecatrienoic acid and 6,9,12,15-octadecatetraenoic acid by rat hepatocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 958: 153-162.
- Vrana, A.; Fabry, P. (1983). Metabolic effects of high sucrose or fructose intake. *World. Rev. Nutr. Diet.* 42: 56-101.
- Wahlefeld, A.W. (1974). Methoden der enzymatischen Analyse. Tomo III. 3ª edn. Verlag Chemie. Weinheim. Bermeyer, H.U..
- Wainwright, P.E. (1992). Do essential fatty acids play a role in brain and behavioral development? *Neurosci Biobehav Rev* 16: 193-205.
- Waku, K. (1992). Origins and fates of fatty acyl-CoA esters. *Biochim. Biophys. Acta* 1124: 101-111.
- Wang, C.; Hartsuck, J.; McConathy, J. (1992). Structure and functional properties of lipoproteins lipase. *Biochim. Biophys. Acta* 1123: 1-17.
- Wang, S.; Koo, S.I. (1993). Evidence for distinct metabolic utilization of stearic acid in comparison with palmitic and oleic acids in rats. *J. Nutr. Biochem.* 4: 594-601.

- Watanabe, M.; Cho, Y.J.; Ide, T.; Sugano, M. (1984). Effects of different levels of dietary trans-octadecenoate on steroid metabolism in rats. *Lipids* 19: 109-116.
- Waterman, R.A.; Romsos, D.R.; Tsai, A.C.; Miller, E.R.; Leveille, G.A. (1975). Effects of dietary carbohydrate source on growth, plasma metabolites and lipogenesis in rats, pigs and chicks. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 150: 220-225.
- Weinstein, I.; Patel, T.B.; Heimberg, M. (1991). Secretion of triglyceride and ketogenesis by livers from spontaneous diabetic BB Wistar rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 176: 1157-1162.
- Welch, V.A.; Borlakoglu, J.T. (1992). Absorption and transport of dietary lipid: effect on some lipid-related health problems. En: Fatty acids in foods and their implications. (ed) Chow, C.K. Marcel Dekker Inc.. pp. 559-612.
- Werman, M.J.; Neeman, I.; Mokady, S. (1991). Avocado oils and hepatic lipid metabolism in growing rats. *Food Chem. Toxicol.* 29: 93-99.
- Whale, K.W.J. (1983). Fatty acid modification and membrane lipids. *Proc. Nutr. Soc.* 42: 273-287.
- White, A.; Handler, P.; Smith, E.L.; Hill, R.L.; Lehman, I.R. (1983). Metabolismo lipídico I. En: Principios de Bioquímica. (eds) White, A.; Handler, P.; Smith, E.L.; Hill, R.L.; Lehman, I.R. edn. 6. McGraw-Hill. pp. 592-632. Madrid.
- Willett, W.C.; Stampfer, M.J.; Manson, J.E.; Colditz, G.A.; Speizer, F.E.; Rosner, B.A.; Sampson, L.A.; Hennekens, C.H. (1993). Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *Lancet* 341: 581-585.
- Williams, V.J.; Szepesi, B. (1983). Effect of dietary carbohydrates on food efficiency and body composition in adult male rats during normal growth and during recovery from food restriction. *Nutr. Res.* 5: 457-468.
- Willumsen, N.; Hexeberg, S.; Skorve, J.; Lundquist, M.; Berge, R.K. (1993). Docosahexaenoic acid shows no triglyceride-lowering effects but increases the peroxisomal fatty acid oxidation in liver of rats. *J. Lipid Res.* 34: 13-22.
- Willumsen, N.; Skorve, J.; Hexeberg, S.; Rustan, A.C.; Berge, R.K. (1993). The hypotriglyceridemic effect of eicosapentaenoic acid in rats is reflected in increased mitochondrial

fatty acid oxidation followed by diminished lipogenesis. *Lipids* **28**: 683-690.

Winand, J.; Cristophe, J. (1977). Effects of high sucrose and high fructose diets on non-obese and congenitally obese hyperglycemic Bar Harbor mice. *Bibl. Nutr. Dietet.* **25**: 83-91.

Wittig, B.; Zierz, S.; Gubernatis, G.; Nath, A.; Jungermann, K. (1985). Glucostat capacity and metabolic zonation in rat liver after portocaval anastomosis. *Biol. Chem. Hoppe-Seykler.* **366**: 713-722.

Wolff, R.L.; Combe, N.A.; Entressangles, B. (1985). Positional distribution of fatty acids in cardiolipin of mitochondria from 21-day-old rats. *Lipids* **20**: 908-914.

Wolff, R.L.; Combe, N.A.; Entressangles, B. (1985). Modification of alkenyl chain profile in plasmalogens of rat heart mitochondria by dietary trielaidin. *Lipids* **20**: 367-371.

Wolff, R.L.; Combe, N.A.; Entressangles, B.; Sebedio, J.L.; Grandgirard, A. (1993). Preferential incorporation of dietary cis-9,cis-12,trans-15 18:3 acid into rat cardiolipins. *Biochim. Biophys. Acta* **1168**: 285-291.

Wolfle, D.; Jungermann, K. (1985). Long term effects of physiological oxygen concentrations on glycolysis and gluconeogenesis in hepatocyte cultures. *Eur. J. Biochem.* **151**: 290-303.

Wolfle, D.; Schmidt, H.; Jungermann, K. (1983). Short-term modulation of glycogen metabolism, glycolysis and gluconeogenesis by physiological oxygen concentrations in hepatocyte cultures. *Eur. J. Biochem.* **135**: 405-412.

Wood, R. (1992). Biological effects of palm oil in humans. En: *Fatty acids in foods and their health implications.* (ed) Chow, C.K. edn. 1. Marcel Dekker. pp. 647-662. New York.

Wood, R. (1992). Biological effects of geometrical and positional isomers of monounsaturated fatty acids in humans. En: *Fatty acids in foods and their health implications.* (ed) Chow, C.K. edn. 1st . Marcel Dekker. pp. 663-688. New York.

Wood, R.; Kubena, K.; Tseng, S.; Martin, G.; Crook, R. (1993). Effect of palm oil, margarine, butter, and sunflower oil on serum lipids and lipoproteins of normocholesterolemic middle-aged men. *J. Nutr. Biochem.* **4**: 286-297.

Wu, C.H.; Hoshi, M.; Shreeve, W.W. (1974). Human plasma triglyceride labelling after high sucrose feeding I. Incorporation of sucrose U15. *Metabolism* **23**: 1125.

- Wuarin-bierman, L.; Wecker, L. (1988).** Choline supplementation increases serum alkaline phosphatase activity in rats. *Clin. Chim. Acta* **176**: 237-238.
- Yamamoto, M.; Yamamoto, I.; Tanaka, Y.; Ontko, J.A. (1987).** Fatty acid metabolism and lipid secretion by perfused livers from rats fed laboratory stock and sucrose-rich diets. *J. Lipid Res.* **28**: 1156-1165.
- Yamazaki, K.; Fujikawa, M.; Hamazaki, T.; Yano, S.; Shono, T. (1992).** Comparison of the conversion rates of alfa-linolenic acid (18:3(n-3)) and stearidonic acid (18:4(n-3)) to longer polyunsaturated fatty acids in rats. *Biochim. Biophys. Acta* **1123**: 18-26.
- Yamazaki, K.; Hamazaki, T. (1992).** Changes in fatty acid composition in rat blood and organs after infusion of eicosapentaenoico acid ethyl ester. *Biochim. Biophys. Acta* **1128**: 35-43.
- Yamazaki, K.; Hamazaki, T.; Yano, S.; Funada, T.; Ibuki, F. (1991).** Changes in fatty acid composition in rat blood and organs after infusion of docosahexaenoic acid ethyl ester. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**: 620-627.
- Yamazaki, R.K.; Shen, T.; Schade, B. (1987).** A diet rich in (n-3) fatty acids increases peroxisomal β -oxidation activity and lowers plasma triacylglycerols without inhibiting glutathione-dependent detoxification activities in the rat liver. *Biochim. Biophys. Acta* **920**: 62-67.
- Yao, Z.; McLeod, R.S. (1994).** Synthesis and secretion of hepatic apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Biochim. Biophys. Acta* **1212**: 152-166.
- Yao, Z.; Vance, D.E. (1988).** The active synthesis of phosphatidylcholine is required for very low density lipoprotein secretion from rat hepatocytes. *J. Biol. Chem.* **263**: 2998-3004.
- Yao, Z.; Vance, D.E. (1989).** Head group specificity in the requirement of phosphatidylcholine biosynthesis for very low density lipoprotein secretion from cultured hepatocytes. *J. Biol. Chem.* **264**: 11373-11380.
- Yao, Z.; Vance, D.E. (1990).** Reduction in VLDL, but not HDL, in plasma of rats deficient in choline. *Biochem. Cell. Biol.* **68**: 552-558.
- Yeo, Y.K.; Holub, B.J. (1990).** Influence of dietary fish oil on the relative synthesis of triacylglycerol and phospholipids in rats liver in vivo. *Lipids* **25**: 811-814.
- Yeo, Y.K.; Philbrick, D-J.; Holub, B.J. (1989).** Altered acyl chain composition of alkylacyl, alkenylacyl, and diacyl subclasses of choline and ethanolamine glycerophospholipids in rat heart

by dietary fish oil. *Biochim. Biophys. Acta* **1001**: 25-30.

Young, E.A.; Harris, M.M.; Cantu, T.L.; Deneke, S.M.; Schenker, S. (1993). Use of the [C14]aminopyrine breath test to assess the hepatic response of dietary obese rats to a very-low-energy diet. *Am. J. Clin. Nutr.* **57**: 863-867.

Young, E.A.; Harris, M.M.; Cantu, T.L.; Ghidoni, J.J.; Crawley, R. (1993). Hepatic response to a very-low-energy diet and refeeding in rats. *Am. J. Clin. Nutr.* **57**: 857-862.

Yudkin, J. (1972). Sugar and disease. *Nature* **239**: 197-199.

Zak, A.; Hátle, K.; Mares, P.; Vrána, A.; Zeman, M.; Sindelková, E.; Skorepa, J.; Hrabák, P. (1990). Effects of dietary n-3 fatty acids on the composition of cholesteryl esters and triglycerides in plasma and liver perfusate of the rat. *J. Nutr. Biochem.* **1**: 472-477.

Zammit, V.A. (1983). Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis. *Proc. Nutr. Soc.* **42**: 289-301.

Zampelas, A.; Furlonger, N.; Morgan, L.M.; Quinlan, P.; Wright, J.; Williams, C.M. (1993). Effects of triacylglycerol structure on postprandial chylomicron triacylglycerol clearance. *Proc. Nutr. Soc.* **52**: 52A.

Zavaroni, I.; Chen, Y.I.; Reaven, G.M. (1981). *Metabolism* **30**: 476-480.

Zavaroni, I.; Chen, Y.I.; Reaven, G.M. (1982). Studies of the mechanism of fructose-induced hypertriglyceridemia in the rat. *Metabolism* **31**: 1077-1083.

Zerouga, M.; Beauge, F.; Niel, E.; Durand, G.; Bourre, J-M. (1991). Interactive effects of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids and chronic ethanol intoxication on synaptic membrane lipid composition and fluidity in rats. *Biochim. Biophys. Acta* **1086**: 295-304.

Zevenbergen, J.L.; Houtsmuller, U.M.T. (1989). Effect of dietary fats on linoleic acid metabolism. A radiolabel study in rats. *Biochim. Biophys. Acta* **1002**: 312-323.

Zevenbergen, J.L.; Houtsmuller, U.M.T.; Gottenbos, J.J. (1988). Linoleic acid requirement of rats fed trans fatty acids. *Lipids* **23**: 178-186.

Zhang, X.Z.; Meijer, G.W.; Beynen, A.C. (1990). Liver cholesterol concentrations in rats fed diets containing various fats of plant origin. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **60**: 275-278.

Ziegler, O.; Guerci, B.; Drouin, P. (1994). Effet des régimes et des médicaments sur le taux plasmatique de LP(a). *Cah. Nutr. Diét XXIX*: 159-165.

Zierz, S.; Katz, N.; Jungermann, K. (1983). Distribution of pyruvate kinase type I and M2 in microdissected periportal and perivenous rat liver tissue with different dietary states. *Hoppe-Seyler's. Z. Physiol. Chem.* **364**: 1447-1453.

Zimmerman, H.J. (1979). Pruebas de función hepática. En: Diagnóstico clínico por el laboratorio. (eds) Davinson, I.; Henry, J.B. Salvat. pp. 825-857.

Zimmerman, H.J.; Henry, J.B. (1979). Determinaciones de las enzimas séricas como ayuda diagnóstica. En: Diagnóstico clínico por el laboratorio. (eds) Davinson, I.; Henry, J.B. Salvat. pp. 859-890.

Zimmerman, H.J.; Kodera, Y.; West, M. (1965). Rate of increase in plasma levels of cytoplasmic and mitochondrial enzymes in experimental carbon tetrachloride hepatotoxicity. *J. Lab. Clin. Med.* **66**: 315-323.

Zottor, B.A.K.; Walker, B.L. (1989). relative hydrolysis of trans- and cis-triglyceride by rat mammary lipoprotein lipase. *Nutr. Res.* **9**: 679-683.

Zsinka, A.J.N; Földes, V.; Perédi, J. (1987a). Certain serum and liver lipid parameters as affected by edible fats of different quantity and quality. *Acta Alimentaria* **16**: 217-233.

Zsinka, A.J.N; Földes, V.; Perédi, J. (1987b). Certain serum and liver lipid parameters as affected by different fat mixtures. *Acta Alimentaria* **16**: 225-230.

Zsinka, A.J.N; Földes, V.; Perédi, J. (1988). Indices of lipid metabolism disturbance induced by diet. *Acta Alimentaria* **17**: 43-51.