



**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**



**INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTROAMERICA Y PANAMA  
(INCAP)**

**DETERMINACION DEL ESTADO DE LA NUTRICION  
DE ACIDOS GRASOS ESENCIALES EN RATAS BIEN NUTRIDAS  
Y DESNUTRIDAS ALIMENTADAS CON DIETAS DE DIVERSO  
CONTENIDO DE ACIDO LINOLEICO.**

**ENRIQUE MURILLO FRANCO**

**CENTRO DE ESTUDIOS SUPERIORES EN NUTRICION Y CIENCIAS DE ALIMENTOS  
(CESNA)**

**Curso de Posgrado en Bioquímica y Nutrición Humana**

**Guatemala, marzo 1979**



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA  
INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA

DETERMINACION DEL ESTADO DE NUTRICION DE ACIDOS GRASOS  
ESENCIALES EN RATAS BIEN NUTRIDAS Y DESNUTRIDAS  
ALIMENTADAS CON DIETAS DE DIVERSO CONTENIDO  
DE ACIDO LINOLEICO

Tesis elaborada por  
ENRIQUE MURRILLO FRANCO

Previo a optar por el grado de

MAESTRO  
(Magister Scientifcae)

Centro de Estudios Superiores en Nutrición y  
Ciencias de Alimentos (CESNA)

Curso de Postgrado en Bioquímica  
y Nutrición Humana

## COMITE INTERINSTITUCIONAL DEL CESNA

Director del CESNA	Dr. Luis Octavio Angel
Decano de la Facultad de Ciencias Médicas	Dr. Rolando Castillo M.
Decano de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia	Lic. Leonel Carrillo M.
Decano de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia	Dr. Max Ernesto Figueroa
Directora de la Escuela de Nutrición	Dra. Susana Icaza
Director del Curso de Postgrado en Salud Pública con Énfasis en Nutrición Materno-infantil	Dr. Luis Octavio Angel
Director del Curso de Postgrado en Bioquímica y Nutrición Humana	Dr. Oscar Pineda
Director del Curso de Postgrado en Ciencias de Alimentos y Nutrición Animal	Dr. J. Edgar Braham

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA  
DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

<b>Decano</b>	<b>Lic. Leonel Carrillo R.</b>
<b>Vocal Primero</b>	<b>Lic. José Héctor Aguilar</b>
<b>Vocal Segundo</b>	<b>Lic. Adolfo León Gross</b>
<b>Vocal Tercero</b>	<b>Lic. Justo Comas Fuxet</b>
<b>Vocal Cuarto</b>	<b>Prof. Ivan Cabrera</b>
<b>Vocal Quinto</b>	<b>Prof. Jorge Matute</b>
<b>Secretario</b>	<b>Lic. Eduardo Robles</b>

**COMITE ASESOR DE TESIS**

**Dr. Fernando Viteri**

**Dr. Oscar Pineda**

**Dr. Jorge Zúñiga**

## **DEDICATORIA**

**Dedico esta tesis a:**

**MI MADRE**

**MI ESPOSA**

**MI HERMANO**

## **AGRADECIMIENTO**

**AL INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA.**

**A LA UNIVERSIDAD DE PANAMA.**

**A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.**

**A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA.**

## **RECONOCIMIENTO**

**AL DR. FERNANDO VITERI POR SU ORIENTACION Y AYUDA EN LA  
REALIZACION DE ESTE TRABAJO.**

**A LA DIVISION DE BIOLOGIA Y NUTRICION HUMANA,**

**AL LABORATORIO UNIFICADO DE CONTROL DE ALIMENTOS.**

**A MIS COMPAÑEROS.**

# CONTENIDO

	Pág. No.
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	5
A Significado de los ácidos grasos del plasma	5
B Teoría de compartimentalización en las células del tejido adiposo.	9
C Actividad lipolítica del tejido adiposo y efecto de cafeína.	13
D Efecto del estado nutricional en el metabolismo del tejido adiposo.	16
1. Disminución del tamaño y número de adipocitos	17
2. Cambios en actividad hormonal con el tamaño del adipocito	18
3. Cambios en los patrones plasmáticos de ácidos grasos	21
III. HIPOTESIS	23
IV. OBJETIVOS	24
V. MATERIALES Y METODOS	25
A Materiales	25
1. Dieta	25
2. Reactivos	26
3. Equipo	28
B Métodos	28
1. Preparación de la dieta	28
2. Diseño Experimental	29
3. Obtención de las muestras	31
4. Análisis de las muestras	32
VI. RESULTADOS	38
A Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M).	39
B Efecto del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación de lipólisis con cafeína	41
1. Acidos grasos libres del plasma	41
2. Acidos grasos totales del plasma	43
3. Acidos grasos totales del tejido adiposo	44



C	Efecto de los diferentes tratamientos sobre las razones 18:1n9/18:2n6 y 18:2n6/20:4n6	44
1.	Razón 18:1n9/18:2n6 en los AGL y AGT del plasma y AGT del tejido adiposo	45
2.	Razón 18:2n6/20:4n6 en AGT del plasma de las ratas bien nutridas y desnutridas	45
VII.	DISCUSION	46
A	Generalidades	46
B	Ingesta crónica de dietas con diferente composición en ácidos grasos	48
C	Cambio reciente en la ingesta de ácidos grasos y estimulación con cafeína	52
1.	Ratas bien nutridas	52
2.	Ratas desnutridas	56
D	Relación 18:1n9/18:2n6 y 18:2n6/20:4n6	62
E	Conclusión	63
VIII.	SUMARIO	
IX.	BIBLIOGRAFIA	72

## LISTA DE CUADROS

- CUADRO 1 Efecto de la ingesta crónica de dieta conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 16:0 en los ácidos grasos libres del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas
- CUADRO 2 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 16:1n7 en los ácidos grasos libres del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 3 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:0 en los ácidos grasos libres del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 4 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:1n9 en los ácidos grasos libres del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 5 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:2n6 en los ácidos grasos libres del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 6 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M) del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 16:0 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 7 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 16:1n7 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.

- CUADRO 8 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:0 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 9 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:1n9 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 10 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:2n6 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 11 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 20:3n9 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 12 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 20:4n6 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 13 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos sobre los valores de 16:0 en los ácidos grasos totales del tejido adiposo de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 14 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos sobre los valores de 16:1n7 en los ácidos grasos totales del tejido adiposo de ratas bien nutridas y desnutridas.

- CUADRO 15 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos sobre los valores de 18:0 en los ácidos grasos totales del tejido adiposo de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 16 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos sobre los valores de 18:1n9 en los ácidos grasos totales del tejido adiposo de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 17 Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos sobre los valores de 18:2n6 en los ácidos grasos totales del tejido adiposo de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 18 Efecto del estado nutricional sobre la composición de ácidos grasos libres del plasma, totales del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas alimentadas 16 semanas con la dieta H.
- CUADRO 19 Efecto del estado nutricional sobre la composición de ácidos grasos libres del plasma, totales del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas alimentadas 16 semanas con la dieta M.
- CUADRO 20 Efecto del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la relación 18:1n9/18:2n6, en los AGT del tejido adiposos, AGL y AGT del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.
- CUADRO 21 Efecto de los diferentes tratamientos sobre la relación 18:2n6/20:4n6 en los AGT del plasma en ratas bien nutridas y desnutridas.

## LISTA DE GRAFICAS

- GRAFICA 1      Curvas de peso de ratas bien nutridas y de ratas desnutridas durante 16 semanas.
- GRAFICA 2      Efecto de la administración I.P. de Benzoato de Sodio y cafeína y de solución salina isotónica, sobre la concentración de AGL
- GRAFICA 3      Cromatograma del aceite de algodón hidrogenado utilizado en la preparación de la dieta H.
- GRAFICA 4      Cromatograma del aceite de maíz utilizado en la preparación de la dieta M.
- GRAFICA 5      Cromatograma de los AGT del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la dieta H.
- GRAFICA 6      Cromatograma de los AGT del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la dieta M.
- GRAFICA 7      Cromatograma de los AGL del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la dieta H.
- GRAFICA 8      Cromatograma de los AGL del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la dieta M.
- GRAFICA 9      Cromatograma de los AGT del tejido adiposo de las ratas alimentadas crónicamente con la dieta H.
- GRAFICA 10     Cromatograma de los AGT del tejido adiposo de las ratas alimentadas crónicamente con la dieta M.
- GRAFICA 11     Cromatograma de los AGT del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la dieta H.
- GRAFICA 12     Efecto de la ingesta crónica de ácidos grasos sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma, libres del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas bien nutridas alimentadas 16 semanas con la dieta M.
- GRAFICA 13     Efecto de la ingesta crónica de ácidos grasos sobre la composición de los ácidos totales del plasma, libres del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas bien nutridas alimentadas 16 semanas con la dieta H.



- GRAFICA 14 Efecto de la ingesta crónica de ácidos grasos sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma, libres del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas desnutridas alimentadas 16 semanas con la dieta M.
- GRAFICA 15 Efecto de la ingesta crónica de ácidos grasos sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma, libres del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas desnutridas alimentadas 16 semanas con la dieta H.
- GRAFICA 16 Efecto de la ingesta reciente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos libres del plasma, en ratas bien nutridas alimentadas inicialmente con la dieta H.
- GRAFICA 17 Efecto de la ingesta reciente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos libres del plasma, en ratas bien nutridas alimentadas inicialmente con la dieta M.
- GRAFICA 18 Efecto de la ingesta reciente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos libres del plasma, en ratas desnutridas alimentadas inicialmente con la dieta H.
- GRAFICA 19 Efecto de la ingesta reciente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos libres, en ratas desnutridas alimentadas inicialmente con la dieta M.
- GRAFICA 20 Efecto del cambio reciente en la ingesta de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma, en ratas bien nutridas alimentadas inicialmente con la dieta H.
- GRAFICA 21 Efecto del cambio reciente en la ingesta de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma, en ratas bien nutridas alimentadas inicialmente con la dieta M.

- GRAFICA 22 Efecto del cambio reciente en la ingesta de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma en ratas desnutridas alimentadas inicialmente con la dieta H.
- GRAFICA 23 Efecto del cambio reciente en la ingesta de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína, sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma en ratas desnutridas alimentadas inicialmente con la dieta M.

## I. INTRODUCCION

En general los miembros de comunidades pobres consumen poca grasa; por ejemplo: la ingestión de grasa diaria per cápita en América Latina es de 56.9 g y en Africa es de 36.5, mientras que en Europa es de 138.9 g y en Norteamérica es de 165.1 (1) . Además, dentro de las comunidades pobres hay grupos que casi no consumen grasa.

La grasa es importante en la dieta porque:

- a. Aumenta la densidad calórica de la dieta.
- b. Sirve de vehículo para las vitaminas liposolubles.
- b. Mejora el sabor y la consistencia de alimentos preparados.
- d. Es fuente de ácidos grasos esenciales (AGE).

Los primeros en reconocer la importancia de los AGE en la dieta fueron Burr y Burr en 1929, (2,3), cuando propusieron que el ácido linoléico y posiblemente el ácido linolénico eran AGE. Sin embargo, últimamente se han realizado gran número de estudios que aclaran el papel de los AGE en el mantenimiento de una serie de funciones vitales.

### Papel de AGE

### Efecto de deficiencia de AGE

---

Constituyente de las  
membranas biológicas

Dermatitis, disminución de la  
resistencia capilar, aumento



de la fragilidad de eritrocitos, aumento de la susceptibilidad a infecciones, degeneración de testículos y ovarios, etc.

#### Precursor de prostaglandinas

Disminución en la contractilidad del miocardio, disminución de la excreción de Na y H<sub>2</sub>O por el riñón, aumento en la agregación de plaquetas, aumento de la presión sanguínea, aumento en la concentración de los ácidos grasos libres del plasma, etc.

#### Integrante de la mielina

Disminución de la síntesis de mielina, importante en el desarrollo cerebral y transmisión nerviosa.

Basado en experimentos nutricionales se ha sugerido que el requerimiento de AGE en niños es de 1% de las calorías totales como ácido linoléico (4). Aunque se piensa que pueden ser más altos (1-4%) (5).

Es posible que en poblaciones con baja ingesta de grasa se presente deficiencia de ácidos grasos esenciales, sobre todo en los grupos más vulnerables como lo son: niños pre-

escolares con déficit energético y niños con desnutrición energética ya que en niños con desnutrición proteínica energética severa de tipo edematoso (Kwashiorkor) se ha obtenido evidencia de deficiencia en AGE (6).

Las experiencias en humanos están basadas principalmente en el desarrollo de síntomas de deficiencia en adultos y niños sometidos a alimentación parenteral total, la cual no contiene grasa y es alta en carbohidratos. Estos individuos presentan principalmente alteraciones en la piel y cambios en los patrones plasmáticos de ácidos grasos. Como la dieta característica de poblaciones pobres, también es baja en grasa y alta en carbohidratos es posible que una deficiencia de AGE sea agudizada por la dieta.

El indicador bioquímico más usado en la actualidad para determinar estado nutricional con respecto a AGE, es la relación trieno/tetraeno (20:3n9/20:4n6). Una relación mayor de 0.4 es considerada indicativa de deficiencia de AGE. Sin embargo, se ha demostrado que los patrones plasmáticos de ácidos grasos son muy susceptibles a cambios recientes de la dieta y así estos cambios pueden oscurecer la situación establecida por la dieta crónica usual.

La grasa acumulada en el tejido adiposo representa la grasa ingerida por períodos largos (ingesta crónica). Por lo tanto, si por medio de una muestra de sangre se pudiera saber el contenido de AGE del tejido adiposo, esto constituiría

un buen paso para la determinación de la ingesta crónica de AGE.

Se consideró en este estudio que por medio de la inducción de lipólisis se podría evitar la interferencia de la ingesta reciente de AGE sobre los patrones plasmáticos de ácidos grasos que reflejan la ingestión usual de AGE, ya que si por medio de la lipólisis se liberan los ácidos grasos del tejido adiposo, el patrón resultante en el plasma va a ser más representativo de los AGE almacenados crónicamente.

Este trabajo tiene por objeto desarrollar las bases para estudios posteriores en humanos, con miras a establecer en poblaciones una forma de diagnóstico del estado nutricional crónico de AGE, al evitar o disminuir la interferencia causada por la ingesta reciente de una dieta diferente a la usual.

## II. ANTECEDENTES

Los antecedentes importantes para este estudio se pueden agrupar de la siguiente manera:

- A Significado de los ácidos grasos del plasma.
- B Teoría de compartimentalización en las células del tejido adiposo.
- C Actividad lipolítica del tejido adiposo y efecto de cafeína.
- D Efecto del estado nutricional en el metabolismo del tejido adiposo.
  - 1. Disminución del tamaño y número de adipocitos.
  - 2. Cambios en actividad hormonal con el tamaño del adipocito.
  - 3. Cambios en los patrones plasmáticos de ácidos grasos.

### A Significado de los Ácidos Grasos del Plasma

En vista que el síndrome de deficiencia en AGE es tan complejo, se hace difícil encontrar un indicador universal para determinar el estado nutricional con respecto a AGE. Sin embargo, tomando en cuenta los cambios que se producen en los patrones plasmáticos de ácidos grasos, algunos investigadores han tratado de establecer requerimientos y estado nutricional de AGE.

Holman (7,8,9) realizó experimentos en animales a los cuales dio diferentes niveles de ácido linoléico y observó cambios notables en el patrón de ácidos grasos de diferentes tejidos, de

cuales elaboró curvas dosis-respuesta. Estos estudios pusieron en evidencia que cuando hay una ingesta adecuada de ácido linoléico (18:2 n6) solamente una pequeña cantidad de ácido eicosatrienóico (20:3 n9) es detectable en el plasma. En ausencia de ácido linoléico en la dieta, aumentan los niveles plasmáticos de ácido 20:3 n9 y disminuyen los niveles de ácido araquidónico (20:4 n6). En base a estos resultados Holman propuso el uso de la relación 20:3 n9/20:4 n6 (trieno/tetraeno) como un indicador de estado nutricional con respecto a AGE e indicó que una relación mayor de 0.4 significaba deficiencia de AGE.

Los clásicos estudios de Hansen (5) en niños sanos alimentados con dietas que variaban en contenido de ácido linoléico, desde 0.07% a 7.3% de las calorías totales, han demostrado que las anormalidades en la piel y cambios bioquímicos asociados con deficiencia de AGE (trieno/tetraeno > 0.4) pueden ser prevenidos con ingestas de 1% o más de las calorías totales como ácido linoléico.

Collins y colaboradores (10) describieron el primer caso de deficiencia de AGE en un adulto humano mantenido por 100 días con nutrición parenteral total ya que las soluciones usadas no contenían grasa y eran ricas en carbohidratos. El paciente desarrolló dermatitis y cambios en la composición de ácidos grasos del suero, indicando deficiencia de AGE por aumento en la relación trieno:tetraeno. Ultimamente han sido publicados una serie de casos similares al descrito por Collins en adultos, lactantes y

niños mantenidos con nutrición parenteral total (11,12,13,14). En todos los trabajos en que se determinó la composición plasmática de ácidos grasos se encontró que la relación trieno/tetraeno era mayor de 0.4.

En un estudio realizado en ocho hombres sanos sometidos a una dieta libre de grasa, con calorías adecuadas (80% provenientes de carbohidratos y 20% como hidrolizado de aminoácidos), Wene y colaboradores (15) encontraron que una dieta libre de grasa administrada por infusión continua intravenosamente o por alimentación nasogástrica, causó una caída significativa en ácido linoléico y araquidónico en 2-3 días, además de un aumento de ácido eicosatrienóico en todas las fracciones de lípidos del plasma. Estos autores propusieron que el desarrollo de deficiencia en AGE se debe a 2 razones: 1) Dieta libre de grasa; 2) Infusión continua de glucosa. La infusión de glucosa estimula la liberación de insulina que previene la movilización de ácido linoléico del tejido adiposo, ya que en los individuos de la experiencia, la composición de los ácidos grasos del tejido adiposo permaneció constante, a pesar de estar alterado el patrón plasmático.

Walker (16) alimentó a un grupo de ratas a partir del destete, durante 25 semanas con una dieta que contenía aceite de coco como única fuente de grasa. Luego dio a estas ratas una dieta que contenía como única fuente de grasa aceite de maíz y siguió los cambios secuenciales en la composición de ácidos grasos del plasma, eritrocitos e hígado. La primera muestra la tomó a los



dos días del cambio de dieta y observó que el ácido eicosatrienóico que inicialmente se encontraba cerca de 15.6% bajaba a 3.6% y el araquidónico que se encontraba en 2% subía a 13.6%. Esto indicó que la relación trieno/tetraeno cambió de 7.8 a 0.25 en dos días.

Una serie de estudios han demostrado que el cambio en la relación trieno/tetraeno no solo depende de la cantidad de ácido linoléico presente en la dieta sino también de las cantidades de otros ácidos grasos presentes. El ácido oléico (18:1 n9) compite con el ácido linoléico (18:2 n6) por la desaturación de manera que cuando aumenta el ácido oléico en relación al ácido linoléico hay más sustrato para la formación de 20:3 n9 y aumenta la relación trieno/tetraeno (17).

Experimentos nutricionales con isómeros geométricos del ácido linoléico como trans-9, trans-12 linoleato (linoleidato) han demostrado que estos compuestos inhiben la síntesis in vivo de araquidonato (18, 19). También se ha encontrado que todos los isómeros trans de 18:2, inhiben la síntesis de ácido eicosatrienóico, y disminuyen la relación trieno/tetraeno sin que necesariamente el estado nutricional con respecto a AGE sea bueno ya que en general los metabolitos de ácidos grasos trans son biológicamente poco activos (20). Esto contribuye a explicar el porqué la dieta parcialmente hidrogenada aumenta el síndrome de deficiencia de AGE, ya que durante el proceso de hidrogenación se forman isómeros del ácido linoléico.

Trabajos realizados en el proyecto "Elgin" para determinar el requerimiento de Vitamina E con relación a los depósitos de ácidos grasos poliinsaturados, han demostrado que pueden encontrarse cantidades significativas de AGE en los tejidos, aún cuando la dieta es baja en AGE (21). Esto demuestra que niveles bajos de AGE en la dieta por períodos limitados de tiempo pueden no reflejar el contenido presente en los tejidos (21). Se encontró además que los niveles relativos de ácidos linoléico obtenidos en depósitos de grasa, tienden a parecerse al nivel de estos ácidos grasos en la dieta, si ésta ha sido suministrada por períodos suficientemente largos (22).

#### B Teoría de Compartimentalización en las Células del Tejido Adiposo

Hirsch y colaboradores (23) han sugerido que la composición de ácidos grasos del tejido adiposo puede ser usada como un indicador de la composición de la grasa dietética ingerida a través de muchos años.

En condiciones de ayuno, los ácidos grasos libres (AGL) del plasma se derivan principalmente del tejido adiposo, (24). En base a esto se podría pensar que la composición de los AGL del plasma sería un buen indicador del estado nutricional crónico de AGE. Sin embargo hay múltiples estudios que demuestran diferencias claras entre la composición de tejido adiposo y la composición de AGL del plasma.

A un grupo de individuos se les dio durante diez semanas

una dieta rica en ácido linoléico y se observó que aunque los lípidos del suero reflejaban la alta ingesta de ácido linoléico, el tejido adiposo permanecía sin cambios. Cuando a estos individuos se les dio luego una dieta libre de grasa, el ácido linoléico de los AGL rápidamente cayó a los niveles del tejido adiposo. En base a estos estudios, Hirsch et al., (23) postulan la existencia de, al menos, dos compartimientos metabólicos separados en el tejido adiposo. Uno muy grande que puede servir como un almacén de grasa que se intercambia lentamente con la grasa de la dieta y otro muy pequeño de recambio rápido que guarda una estrecha relación metabólica con los lípidos de la dieta, suero e hígado.

Heimberg y colaboradores (25) realizaron estudios en humanos y observaron los cambios producidos en los AGL del plasma, después de la ingestión de aceite de coco o de cártamo mezclados con leche. Aún después de 12 horas de haber ingerido el aceite los patrones plasmáticos de AGL eran diferentes del tiempo cero. En el caso del aceite de cártamo los niveles de ácido linoléico aumentaron considerablemente, mientras que la administración de aceite de coco produjo cambios en ácidos laurico y mirístico. Ellos indicaron que los AGL del plasma no son representativos del total de ácidos grasos del tejido adiposo. Además indicaron, que los AGL que eran derivados en gran parte de la dieta podían determinar la cantidad, composición y propiedades físicas de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) secretadas por el hígado.

Kerpel y colaboradores (26) estudiaron la cinética de captación, esterificación y liberación de ácidos grasos del tejido adiposo de ratas. Ellos incubaron tejido adiposo en un medio conteniendo albúmina y ácido  $\angle^{14}\text{C}$ / Palmítico, y luego estimularon la lipólisis agregando epinefrina al medio. Observaron que los ácidos grasos liberados del tejido adiposo excedían en actividad específica a los que permanecían en el tejido. Estos resultados sugirieron que los ácidos grasos liberados al medio eran derivados de un compartimiento activo de los glicéridos del tejido adiposo. Estos autores indicaron además que los ácidos grasos últimos en entrar son los primeros en salir.

Antes de 1964 los estudios realizados sobre metabolismo de tejido adiposo se llevaban a cabo con el tejido intacto. No se sabía si las células individuales (adipocitos) mantenían en forma separada las características del tejido. Rodbell (23) fue el primero en realizar estudios metabólicos con adipocitos aislados por tratamiento del tejido adiposo con collagenasa. Los resultados obtenidos con células aisladas demostraron que estas mantienen las características metabólicas intrínsecas del tejido adiposo.

Estudios con células aisladas incubadas con  $\angle\overline{\text{U}}^{14}\text{C}$ -Glucosa,  $\angle\overline{\text{I}}\text{-C}$ -Acetato o  $\angle\overline{9}\text{y}10\text{-}^3\text{H}$ -Palmitato realizados por Angel (24,25), demostraron que mientras la mayor parte de los lípidos recientemente sintetizados por el tejido adiposo eran triglicéridos (TG una cantidad considerable (13-20%) eran diglicéridos (DG). Esto

contrastaba con la composición de los depósitos preexistentes de los cuales menos de 0.5% eran DG. El 95% de DG nuevos se encontraban localizados en el depósito grande de grasa junto con el 90% de los TG nuevos. La adición de insulina (acción lipogénica) aumentó la cantidad absoluta y relativa de DG marcados y este efecto fue abolido por la epinefrina (acción lipolítica) ya que esta hormona causaba una hidrólisis preferencial del DG nuevo sobre el TG nuevo. Así postuló que la acumulación de radioactividad en los DG representa la formación de un pozo metabólico (pool) muy lábil en el tejido adiposo y a esto llamó "compartimentalización química" para diferenciarla de la llamada "compartimentalización estructural", que se refiere a la localización de los lípidos en determinadas fracciones celulares.

Winand (30) separó diferentes fracciones de lípidos en adipocitos (TG, 1,2 DG, 1,3 DG, monoglicéridos, fosfolípidos y AGL) y determinó la composición de ácidos grasos en cada fracción. Los resultados indicaron que 1,2 DG y 1,3 DG tenían la misma composición en ácidos grasos que los AGL, mientras que la composición de las otras fracciones era notablemente diferente de los AGL.

En estudios realizados con tejido adiposo intacto perfundado con ácido  $[9,10-^3H]$  oléico luego autoradiografiado para determinar la localización de los lípidos recientemente sintetizados, se encontró que los AGL son rápidamente tomados y depositados en gotitas de grasa dentro de los adipocitos. Todas

estas pequeñas gotas se unen a otras formando gotas más grandes. Estos resultados sugieren que los lípidos recientemente sintetizados se mezclan así con los preexistentes (31).

Khoo y colaboradores (32) han demostrado que la Lipasa sensible a hormonas en los adipocitos estimulados con epinefrina se encuentra principalmente en el citoplasma de la célula. También encontraron que esta enzima está fuertemente unida a los lípidos que son sus substratos y que muy poca hidrólisis de triglicéridos exógenos toma lugar. Estos resultados tienden a reforzar la hipótesis de que hay una fracción en el citoplasma del adipocito en la cual los TG son preferentemente hidrolizados.

Trabajos realizados con adipocitos aislados, incubados en un medio que contenía  $[U-^{14}C]$ -glucosa o palmitato marcado, demostraron que una fracción de TG con alta actividad específica recientemente sintetizada de glucosa o palmitato, contribuía en gran proporción a los ácidos grasos liberados después de la estimulación con epinefrina y al mismo tiempo reemplazaba al "pool" de DGs. Así el "pool" activo de los glicéridos en el adipocito está compuesto por DG y TG. En presencia de epinefrina el TG "activo" se mezcla rápidamente con el "pool" grande de TG alcanzando el equilibrio en 1 hora, mientras que en ausencia de epinefrina la mezcla es relativamente lenta, mezclándose la mitad en alrededor de 3 1/2 horas (33).



La movilización de ácidos grasos del tejido adiposo requiere de la hidrólisis de los TG a AGL y glicerol. La conversión de TG a DG y AGL, es la reacción limitante en la velocidad de liberación de AGL y está catalizada por una enzima o enzimas llamada "triglicérido lipasa sensible a hormonas". Luego que esta enzima actúa, otras lipasas completan la conversión a AGL y glicerol (34).

La enzima adenilciclase que se encuentra en el adipocito, es activada por una variedad de hormonas como: epinefrina, ACTH, Glucagón, Luteinizante, Estimulante de la Tiroides, Secretina, Vasopresina y Serotonina. La respuesta lipolítica del adipocito a esas hormonas es presumiblemente mediada por AMP cíclico (cAMP), por medio de la activación de la adenilciclase. El primer reporte de la existencia de un sistema de adenilciclase sensible a epinefrina, fue hecho por Sutherland y Rall (35).

Recientemente se ha demostrado que la actividad hormonal de la enzima "TG-lipasa sensible a hormonas" es mediada por cAMP el cual actúa por medio de una proteína-quinasa para convertir la lipasa inactiva a la forma fosforilada activa (36, 37). También se ha determinado que las hormonas lipolíticas actúan a través de receptores en la superficie del adipocito, donde activan a la adenilciclase (38).

Butcher y colaboradores (39,40) realizaron una serie de experimentos encaminados a determinar la relación entre los niveles de cAMP y la lipólisis. Ellos encontraron que la adición de epinefrina al medio de incubación aumenta rápidamente los niveles

de cAMP en el adipocito y que este aumento depende de la concentración de hormona. La cafeína, que es un inhibidor de la 3', 5' nucleótido fosfodiesterasa (enzima que degrada cAMP), actúa sinérgicamente con la epinefrina aumentando los niveles intracelulares de cAMP y produciendo efecto lipolítico. Por el contrario, la Fentolamina y el 1,2 isopropilaminoetanol que son antagonistas del efecto lipolítico de la epinefrina, bloquean parcialmente el aumento de cAMP y la liberación de AGL.

Se ha reportado que el cAMP, en presencia de ATP y  $Mg^{+2}$  puede restaurar en gran parte la actividad de la TG lipasa previamente inactivada. La concentración de cAMP requerida para un máximo efecto en la activación del sistema en homogenizados fue  $2 \times 10^{-5} M$ , comparable con la concentración intracelular de cAMP. El ATP fue requerido para el efecto de cAMP pero el CTP lo puede sustituir a un doble de concentración (41,42).

El efecto sinérgico de Metilxantinas y catecolaminas fue reportado por Vaughan y Steinberg (43). Ellos observaron que la cafeína causa un pequeño pero significativo aumento en la liberación de glicerol del tejido adiposo en presencia de 0.03 mg/ml de epinefrina. Además demostraron que la cafeína por sí sola tiene sólo un efecto débil.

Sutherland (44) encontró que la cafeína tiene un efecto sobre los niveles de cAMP. El indicó que en varios tejidos hay una enzima capaz de inactivar el cAMP y que esta enzima probablemente es una fosfodiesterasa, que es activada por  $Mg^{+2}$

e inactivada por cafeína.

La fosfodiesterasa fue luego aislada y purificada por el mismo Sutherland (45), quien determinó al mismo tiempo algunas propiedades de la enzima. También encontró que el principal mecanismo de destrucción del cAMP es por medio de la fosfodiesterasa.

Bellet y colaboradores (46) realizaron estudios con humanos para determinar el efecto de la cafeína en forma de café y de benzoato sódico de cafeína sobre los AGL del plasma. Los AGL se encontraron significativamente más altos después de tomar café y se observaron efectos similares después de la administración intramuscular de benzoato sódico de cafeína.

El mismo grupo (47) realizó luego estudios en humanos y perros para medir los cambios que ocurren a lo largo del tiempo en los niveles plasmáticos de cafeína así como de AGL al administrar cafeína. Así, se observó en humanos que 3 horas después de la toma de una taza de café los niveles de AGL estaban 92% más altos que los niveles previos a la toma del café. A los perros se les administró benzoato de sodio y cafeína por vía intramuscular y se observó también a las 3 horas un valor máximo que correspondía a un aumento en la concentración de AGL de 137% en relación a los valores basales.

#### D Efecto del Estado Nutricional en el Metabolismo del Tejido Adiposo

Una serie de trabajos publicados en los últimos años han

demostrado que la población de adipocitos en el humano alcanza un máximo a temprana edad y que la deposición de grasa subsecuente está asociada con el aumento en tamaño de los adipocitos ya existentes. Como la acción de las hormonas sobre el adipocito, es a través de receptores que se encuentran localizados en las membranas, (38), la velocidad de lipólisis y lipogénesis está determinada por el área de la membrana plasmática de la célula. Por lo tanto, el número de células adiposas, su tamaño y el total de superficie celular existente pueden ser factores que determinen la actividad metabólica del tejido adiposo (48).

#### 1. Disminución del tamaño y número de adipocitos

Knittle (49) en estudios realizados para determinar el efecto de la nutrición temprana sobre el desarrollo y metabolismo del tejido adiposo, encontró que ratas con ingesta calórica baja antes del destete tienen un menor número de células por peso de tejido adiposo. Además demostró que después de 15 semanas el número de células no aumentan más, mientras que el tamaño sí es susceptible de aumento. En ratas con ingesta calórica alta antes del destete se observó un aumento en el número y tamaño de las células aún a las 20 semanas de edad. La velocidad de conversión de glucosa a  $\text{CO}_2$  y a TG es igual en ambos grupos si se expresa por número de células, aunque el total de incorporación es mayor en animales que tienen más células.

Hirsch (50) ha encontrado que si ratas después de destetadas se mantienen en inanición severa por 6 semanas y luego



se les alimenta ad libitum , no se producen cambios en el tamaño y número de células al compararlas con ratas control. Por el contrario, si se mantienen a ratas en inanición moderada durante 15 semanas después del destete y luego se les alimenta ad libitum durante 26 semanas, el número de células no cambia pero las células son más pequeñas.

Otro grupo de investigadores (51) estudió el efecto del ejercicio y la restricción dietética temprana sobre el desarrollo del tejido adiposo. Ellos encontraron que después de 15 semanas de alimentación y actividad normales las ratas sometidas a restricción dietética y las sometidas a ejercicios tienen menor número de adipocitos y estos son más pequeños que las ratas sedentarias alimentadas ad libitum.

Masoro y colaboradores (52) encontraron que el número de adipocitos en el tejido adiposo de ratas adultas puede ser marcadamente reducido por una restricción dietética durante 2 semanas después del destete. Así el período de predestete no es el único capaz de producir reducción en el número de adipocitos como consecuencia de una reducción en la ingesta dietética. Estos resultados son contrarios a los obtenidos por Hirsch (50).

## 2. Cambios en la respuesta hormonal relacionada al tamaño del adipocito

Estudios encaminados a determinar el efecto del tamaño y número de adipocitos, sobre el metabolismo de glucosa y la sensibilidad a insulina del tejido adiposo humano, han

demostrado que la repuesta del tejido adiposo a la insulina es dependiente del tamaño del adipocito. Así las células grandes presentan una repuesta menor a la insulina que las células pequeñas (53).

Goldrick y colaboradores (54) han encontrado en adipocitos pertenecientes a ratas alimentadas ad libitum que, la velocidad de esterificación, cuando estos se estimulan con teofilina, correlaciona positivamente con el tamaño de la célula. En contraste, esta correlación es negativa en adipocitos pertenecientes a ratas mantenidas a ingesta restringida. Por otro lado, en ambos grupos, la velocidad de lipólisis correlaciona positivamente con el tamaño de la célula cuando se estimula con teofilina o epinefrina. Estos hallazgos indican que el estado nutricional puede modificar la repuesta del adipocito a un estímulo, tanto en la esterificación de ácidos grasos como en el proceso de lipólisis.

Estudios sobre el efecto de factores nutricionales en la actividad de la adenilciclase en la membrana del adipocito, han demostrado que la estimulación de esta enzima por la epinefrina aumenta en ratas mantenidas en ayuno, mientras que la repuesta a glucagón no cambia. Ratas mantenidas de 1 a 7 días con dietas altas en grasa muestran una pérdida progresiva en la actividad de la adenilciclase cuando se estimulan con glucagón y epinefrina. La pérdida de repuesta a la estimulación con hormonas, está asociada con un aumento significativo en el diámetro de la célula (55,56).

Se han realizado estudios tendientes a investigar la

resistencia de los adipocitos grandes a glucagón. Livingston y colaboradores (57) trabajando con  $\angle^{125}\text{I}$ - glucagón encontraron que esta hormona se une menos a las células grandes que a las células pequeñas; además demostraron que esta disminución no es consecuencia de un aumento en la degradación de glucagón, mientras que existe una buena correlación entre la elevación de niveles de fosfodiesterasa en la célula y la insensibilidad al glucagón. Sugieren los mismos autores (58) que la alteración en promover lipólisis, no se debe a alteración de la adenilciclase, ya que no se observó diferencia entre la estimulación máxima con epinefrina o teofilina.

Manganiello y colaboradores (59) han encontrado que en las ratas hay una pérdida de repuesta del adipocito al glucagón durante la época de crecimiento, que es precisamente la época en que el adipocito aumenta de tamaño. Los autores postulan que esto se debe a una disminución de los receptores de glucagón.

Cooper y colaboradores (60, 61) llevaron a cabo una serie de estudios para determinar la importancia de la edad y el tamaño de la célula sobre la actividad de la adenilciclase sensible a hormonas. Ellos indicaron que el tamaño de la célula por sí misma no es el factor más importante que afecta la repuesta de la adenilciclase a las hormonas. Sus datos no corroboran el postulado de que el incremento en el tamaño de las células está directamente relacionado con la disminución de la actividad de las enzimas durante el envejecimiento (55, 56).

### 3. Cambios en los patrones plasmáticos de ácidos grasos

Hansen y colaboradores (62,63) han estudiado el efecto de la baja ingesta calórica en la deficiencia de AGE en perros. Ellos encontraron que el patrón de ácidos grasos del plasma y eritrocitos, cambia con la ingesta calórica. Indican los autores que cuando la ingesta calórica es baja la concentración de ácido linoléico es siempre más alta, mientras que la del ácido araquidónico no es afectada y la del ácido eicosatrienico es más baja.

Estudios controlados en humanos para determinar el efecto de la ingesta calórica en el patrón de ácidos grasos del plasma son difíciles de llevar a cabo. Sin embargo un estudio que compara la composición de ácidos grasos del plasma en indígenas de Guatemala (ingesta calórica baja y fuente de grasa fundamentalmente rica en ácidos grasos poliinsaturados) con hombres de Nueva Orleans (ingesta calórica alta), ponen en evidencia que aunque el ácido linoléico se encuentra en cantidades similares en los dos grupos, el ácido araquidónico se encuentra en menor cantidad en los indígenas de Guatemala (64).

Los antecedentes presentados los podemos resumir de la siguiente manera:

Los ácidos grasos del plasma reflejan la ingesta de grasa reciente, por lo tanto los indicadores de estado nutricional con respecto a AGE que tomen en cuenta la composición plasmática no son muy confiables. Hirsch ha postulado que esto se debe

a que en el tejido adiposo hay 2 compartimientos, uno pequeño que se intercambia rápidamente con los ácidos grasos de la dieta y otro grande de recambio lento. Esta hipótesis ha sido comprobada por trabajos in vitro. Sin embargo aún se cuestiona sobre si esta compartimentalización es debida a que la grasa recién integrada forma un tipo de glicéridos más susceptible a hidrólisis enzimática (compartimentalización química) o a que se acumula en una organela celular que facilita su disponibilidad a la lipasa. Hay un grupo de sustancias que estimulan la liberación de ácidos grasos libres del tejido adiposo por aumento en los niveles de cAMP, ya sea estimulando la síntesis de cAMP, que puede ser por aumento en la actividad de la adenilciclase (epinefrina) o disminuyendo la degradación de cAMP, por inhibición de la fosfodiesterasa (cafeína). El tamaño del adipocito puede cambiar por una serie de causas como lo son estado nutricional, ejercicio y edad. Se ha demostrado además, que la repuesta del adipocito a la estimulación con hormonas varía con el tamaño. Por otro lado, también se ha encontrado que el patrón plasmático de ácidos grasos varía con la ingesta calórica, la fuente y la cantidad de grasa.

### III. HIPOTESIS

1. La composición de ácidos grasos del plasma y del tejido adiposo, tienden a parecerse a los ácidos grasos de la dieta si ésta ha sido administrada por largos períodos (ingesta crónica).
2. Cambios drásticos en la composición de ácidos grasos de la dieta, alteran el patrón de los ácidos grasos del plasma pero no del tejido adiposo.
3. Ratas alimentadas con la misma dieta, unas ad libitum y otras con ingesta restringida, tienen diferentes patrones plasmáticos de ácidos grasos.
4. Cambios en los ácidos grasos de la dieta producen cambios más drásticos en los patrones plasmáticos de ratas sometidas a ingesta restringida, que en ratas alimentadas ad libitum.
5. El patrón de AGL del plasma después de la administración de cafeína tiende a parecerse más al patrón de ácidos grasos del tejido adiposo, y menos al patrón de la dieta recientemente ingerida.
6. El efecto sobre el patrón de ácidos grasos libres producido por la estimulación con cafeína, es mayor en ratas desnutridas que en ratas bien nutridas.



IV. OBJETIVOS

- 1. Demostrar que los ácidos grasos del plasma y del tejido adiposo, tienden a parecerse a los ácidos grasos de la dieta si ésta ha sido administrada por largos períodos (ingesta crónica).
- 2. Demostrar que cambios drásticos de corta duración en la composición de ácidos grasos de la dieta, alteran el patrón de los ácidos grasos del plasma pero no los del tejido adiposo.
- 3. Demostrar que ratas alimentadas con la misma dieta pero unas ad libitum y otras con ingesta restringida, tienen diferentes patrones plasmáticos de ácidos grasos.
- 4. Demostrar que los cambios en patrones plasmáticos producidos por cambios en dieta son mayores en ratas sometidas a ingesta restringida, que en ratas alimentadas ad libitum.
- 5. Demostrar que el patrón de AGL del plasma después de la administración de cafeína tiende a parecerse más al patrón de ácidos grasos del tejido adiposo que al patrón de la dieta recientemente ingerida.
- 6. Demostrar que este efecto producido por la estimulación con cafeína puede ser más mayor en ratas desnutridas que en ratas bien nutridas.

V. MATERIALES Y METODOS

A Materiales

1. Dieta

- a. Caseína libre de vitaminas obtenida de la ICN Pharmaceutical, Inc. Life Science Group. Chagrin, Falls, Ohio.
- b. Almidón comercial se utilizó como fuente de carbohidratos.
- c. Aceite: para preparación de la dieta M, rica en AGE, se utilizó aceite Mazola comercial; para la preparación de la dieta baja en AGE, dieta H, se utilizó aceite de algodón hidrogenado obtenido en la fábrica Olmeca.

Composición en ácidos grasos de la grasa utilizada

Acido graso	Mazola (%)	Hidrogenado (%)
16	13.22	21.45
16:1	traza	1.14
18	1.44	4.06
18:1	27.09	68.76
18:2	58.25	3.85

- d. Vitaminas: las vitaminas hidrosolubles se agregaron, en la proporción de 5 ml/100 g de dieta, de la mezcla en metanol preparada por el INCAP (65), las vitaminas Liposolubles A, D, K y E se agregaron al aceite mezclándolas debidamente.

### Vitaminas Hidrosolubles mg/ml de mezcla

Tiamina	0.600
Riboflavina	0.600
Piridoxina	0.6000
Pantoteinato de Ca	2.000
Niacina	1.000
Biotina	0.002
Acido Fólico	0.004
Inositol	8.000
Acido P-aminobenzóico	6.000
Cianocabolamina	0.600
Cloruro de Colina	30.000

### Vitaminas Liposolubles en 100 g de dieta

A (Palmitato de retinol)	4 mg
D	30 U.I.
K (menadiona)	1 mg
E (acetato de $\alpha$ -tocoferol)	3 mg

- e. Mezcla de sales: Hegsted (66) obtenida de ICN Pharmaceutical, Inc. Life Science Group. Cleveland

Ohio, 44128.

	%
Carbonato de calcio	29.315
Difosfato de calcio	7.328
Sulfato cúprico	0.029
Citrato Férrico	2.687
Sulfato de magnesio	9.967
Ioduro de potasio	0.078
Fosfato dibásico de potasio	31.513
Cloruro de sodio	16.373
Cloruro de zinc	0.024
Sulfato de manganeso	

- f. Metionina.

- g. Celulosa: Alfacel no nutritiva de la ICN Pharmaceutical, Inc. Life Science group. Cleveland, Ohio, 44128.

## 2. Reactivos

- a. Concentración de ácidos grasos libres en sangre.

Benzoato de sodio y cafeína: se mezclan benzoato de sodio y cafeína en una proporción de 50:50 y se prepara una solución de 100 mg/ml de esta mezcla.

Cobre-Trietanolamina (Cu-TEA): se mezclan Trietanolamina 1M, ácido acético 1M y Cu (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 3H<sub>2</sub>O al 0.45 g/ml en una proporción de 9:1:10 (v/v/v).

Difenilcarbazida-difenilcarbazona: se mezclan difenilcarbazida y difenilcarbazona en una proporción de 5:95; con esta mezcla se prepara una solución al 0.5 g/ml en metanol.

- b. Determinación de ácidos grasos libres individuales.

N,N'-Carbonyldiimidazol (CDI): el reactivo se prepara diariamente como una solución 0.325M en cloroformo.

Mezcla de extracción: se mezclan 600 ml de heptano con 1,400 ml de alcohol isopropílico.

Trietilamina (TEA): al 10% (v/v) en metanol absoluto.

Hidróxido de sodio: se prepara una solución acuosa de hidróxido de sodio 1.0M y se satura con tetracloruro de carbono.

Acidos Grasos Standard: los ácidos Pentadecanoico,

Palmítico, Palmitoléico, Estearíco, Oléico y Linoléico fueron obtenidos de Sigma Chemical Company, con una pureza aproximada de 99%

c. Acidos grasos totales.

Cloroformo-Metanol: se mezclan 2 volúmenes de Cloroformo por cada volumen de metanol absoluto.

Trifloruro de Boro en metanol (BF<sub>3</sub>-Metanol).

3. Equipo.

Espectrofotómetro: Espectronic 20 (Baush & Lomb).

Homogenizador: Daigger Dial-Speed Stirrer. Chicago. A. Daiger & Co. Los Angeles

Cromatógrafo de gases: Tracor, Modelo 222, Austin, Texas.

B Métodos

1. Preparación de la dieta

Ingredientes para preparar 100 gramos de dieta	Dietas	
	M	H
Caseína	20.0	20.0
Almidón	55.7	55.7

Aceite de maíz	15.0	--
Aceite vegetal hidrogenado	--	--
Mezcla de sales	5.0	5.0
Metionina	0.3	0.3
Celulosa	4.0	4.0
Mezcla de vitaminas hidrosolubles*	5 ml	5 ml
Vitaminas Liposolubles agregados en el aceite*		

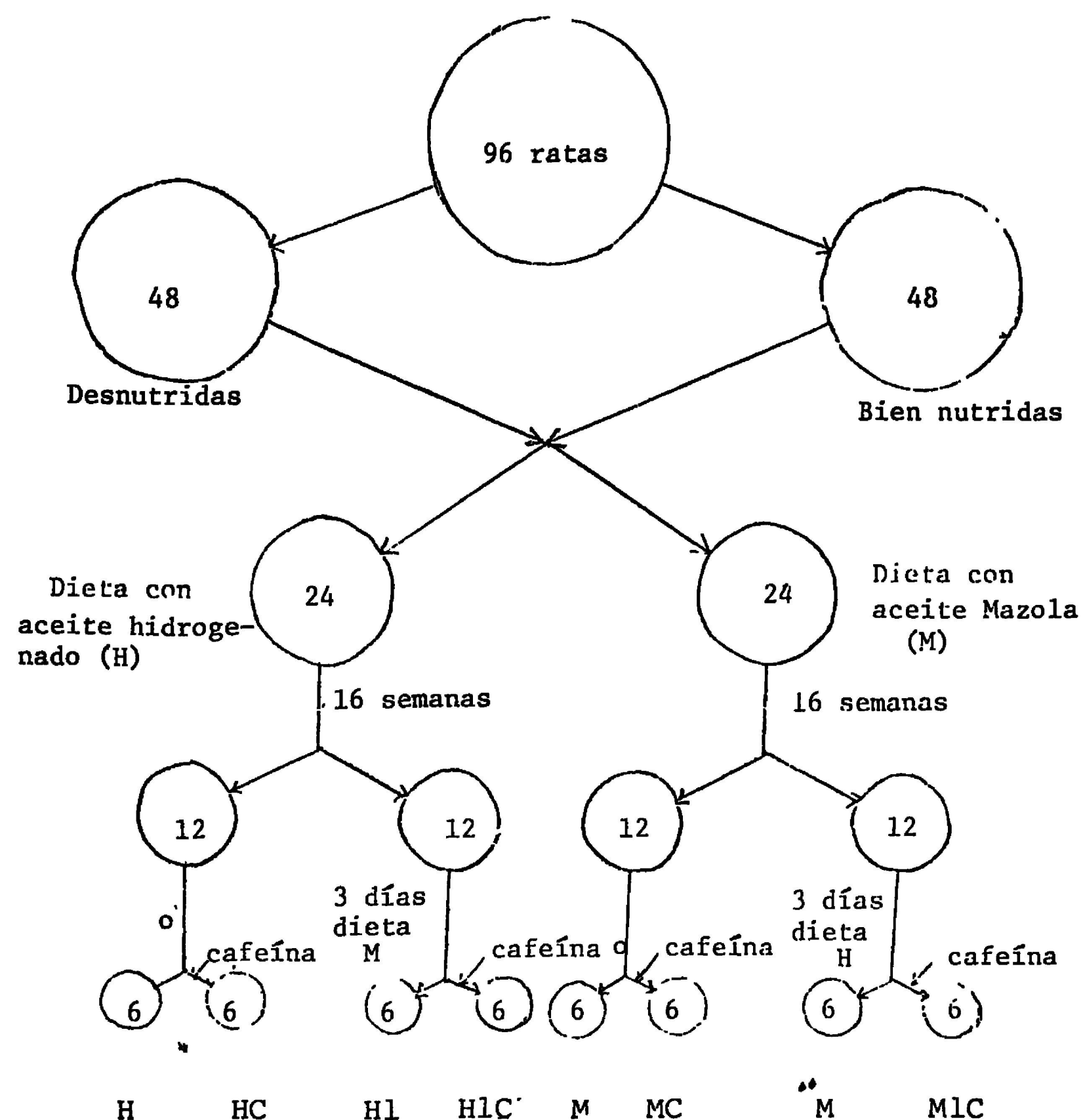
\* Ver Materiales.

2. Diseño Experimental

a. Distribución de las ratas en los diferentes grupos de dieta.

Se tomaron 96 ratas machos recién destetados de la raza Wistar y se distribuyeron en 2 grandes grupos de 48 ratas cada uno. Un grupo fue alimentado ad libitum y el otro se mantuvo con una ingesta restringida (50% de la que comen las ratas ad libitum por kilogramo de peso, a la misma edad). Cada grupo de 48 ratas se redistribuyó de la siguiente manera.

Dieta	No. de ratas
M (rica en AGE)	24
H (pobre en AGE)	24



- H = Ingesta crónica de grasa hidrogenada  
 HC = Ingesta igual a H; muestra post-cafeína  
 H1 = Ingesta crónica de grasa hidrogenada y reciente de aceite de maíz.  
 H1C = Ingesta igual a H1; muestra post-cafeína.  
 M = Ingesta crónica de aceite de maíz  
 MC = Ingesta igual a M; muestra post-cafeína  
 M1 = Ingesta crónica de aceite de maíz y reciente de grasa hidrogenada  
 M1C = Ingesta igual a M1; muestra post-cafeína.

### 3. Obtención de las muestras

- a. Determinación del tiempo para obtener la muestra de sangre después de estimulación con cafeína.

Se tomaron 30 ratas machos adultos de la raza Wistar, alimentadas ad libitum con Purina rata Chow. A 15 se les administró solución salina intraperitoneal (I.P.) (control) y a las otras 15 se les administró una dosis de cafeína de 50 mg/kg de peso en forma de benzoato de sodio y cafeína. Cada hora durante cinco horas se anestesiaron 6 ratas (3 control y 3 con cafeína) con una dosis de pentobarbital sódico de 55 mg/kg de peso y se obtuvieron aproximadamente 0.5 ml de sangre de la cola. En el plasma de esta sangre se determinó la concentración de AGL.

En los experimentos posteriores en que se estimularon ratas con cafeína, la muestra de sangre se colectó una hora después del tiempo de máxima actividad lipolítica.

- b. Obtención de las muestras para determinar la composición de ácidos grasos en: AGL del plasma, ácidos grasos totales del plasma y ácidos grasos totales del tejido adiposo.

Cinco minutos antes del tiempo calculado para



colectar la muestra, se anestesiaron las ratas con pentobarbital sódico (50 mg/kg de peso). De la aorta abdominal se obtuvo aproximadamente 10 ml de sangre que se colocaron en tubos de centrífuga fríos conteniendo heparina como anticoagulante. La sangre se centrifugó a   
 en una centrífuga refrigerada con una temperatura de 5°C durante 20 minutos y la muestra de plasma obtenida se almacenó a -20°C para análisis posteriores. A estas ratas se les tomó además una muestra de grasa del epidídimo que también se almacenó a - 20°C.

#### 4. Análisis de las muestras

- a. Determinación de la concentración de ácidos grasos libres en la sangre.

200 ul de sangre se mezclaron con 0.6 ml de NaCl 0.9 g/dl en un tubo de centrífuga frío y se separaron las células rojas por centrifugación en frío (5°C) a   
 durante 20 minutos. Del sobrenadante claro se tomaron 0.5 ml; este volumen fue añadido a un tubo de ensayo con tapon de vidrio (15 x 150 mm) que contenía 4 ml de cloroformo y 0.5 ml de solución amortiguadora de fosfato (pH 5-7). El tubo se

- b. Ingesta crónica de dietas conteniendo diferente composición de ácidos grasos.

Al final de las 16 semanas se tomaron 12 ratas de cada grupo de dieta. A 6 se les administró 1 ml de solución salina I.P. (basal) y a las otras 6 se les administró I.P. una dosis de cafeína de 50 mg/kg de peso, en una solución de benzoato de sodio y cafeína, cuya concentración era 100 mg/ml.

- c. Efecto de aumentar la ingesta de ácido linoléico a ratas con ingesta crónica baja en AGE.

Las 12 ratas restantes de la dieta H se cambiaron a la dieta M. Tres días después se sacrificaron y se procedió como en el punto b.

- d. Efecto de disminuir la ingesta de ácido linoléico a ratas con ingesta crónica alta en AGE.

Las 12 ratas restantes de la dieta M fueron cambiadas a la dieta H. Tres días después se sacrificaron y se procedió como en el punto b.



agitó por 80 segundos y se dejó reposar 30 minutos, luego se removi6 la capa superior cuidadosamente por succi6n con una pipeta fina y a la capa de cloroformo residual se le aña-di6 2 ml de soluci6n Cu-trietanolamina. El tubo se agit6 20 veces y se dej6 reposar 30 minutos. Luego se removi6 la capa superior y la capa inferior que contenía cloroformo se filtr6 a otro tubo de ensayo. El color se desarroll6 por la adici6n de 1.5 ml de una soluci6n al 0.5g/dl de una mezcla difenilcarbazona-difenilcabazida (5:95) en metanol. La abosr-vancia de la mezcla fue leída en un expectro-fot6metro a 550 nm contra un blanco de cloro-formo (67).

b. Determinaci6n del patr6n de ácidos grasos totales del plasma y tejido adiposo.

i Extracci6n de lípidos totales:

Se homogeniz6 1 ml o 1 gramo de muestra con una mezcla cloroformo-metanol 2:1, a una diluci6n final de 20 veces el volumen de la muestra. El homogenizado se filtr6 y al filtrado se aña-di6 una cantidad de agua igual al 20% de su volumen, mezclando cuidadosamente. Se elimin6 la capa superior y la capa inferior se evapor6 hasta

sequedad a presi6n reducida. El residuo re-presenta el total de lípidos presentes en el tejido (68).

ii Preparaci6n de esteres metílicos.

A todo el residuo d lípidos en el caso del plasma y a cuatro gotas (aproximadamente 200 ul) en el caso de tejido adiposo, se aña-dieron 4 ml de soluci6n de hidróxido de sodio metanol 0.5 M. La mezcla se calent6 en un baño de vapor por 5 minutos; luego se le agreg6 5 ml de BF<sub>3</sub>-Metanol y se calent6 a ebullici6n por dos minutos. Se agreg6 5 ml de una soluci6n satu-rada de NaCl de manera que flotaran los esteres formados. A la mezcla se le aña-di6 5 ml de heptano se agit6 vigorosamente un minuto, se dej6 reposar y luego se obtuvo la capa superior con una pipeta fina. Si la soluci6n de esteres metílicos está muy diluída, se puede concentrar por evaporaci6n con flujo de nitr6geno. Así la muestra está lista para cromatografía gas-líquido (69).

iii Cromatografía de gas.

Los perfiles cromatográficos fueron obtenidos en un cromatógrafo de gases Tracor 222 con detector de ionizaci6n de llama. Aunque en

algunos cromatogramas se cambiaron un poco algunas condiciones, el juego de condiciones representativo fue el siguiente: Temperatura de la columna, 200°C; temperatura en la Cámara de inyección, 210°C; temperatura del detector, 210°C; velocidad de flujo del gas portador fue controlado de manera que el ácido 18:2 apareciera con un tiempo de retención de  $\approx$  12 minutos; empaque de la columna, 10% SP-2300 en 80/100 Supelcoport; diámetro interno de la columna, 1/8 pulgadas; longitud de la columna, 168 cm., tiempo, 30 minutos.

c. Determinación de la composición de ácidos grasos libres en el plasma:

A un tubo de centrífuga de 15 ml con tapón de vidrio que contenía 4 ml de mezcla de extracción, se le agregó 1 ml de plasma. Se añadieron 2 ml de  $H_2SO_4$  0.033N; las fases se mezclaron vigorosamente por al menos diez segundos con un "Vortex Mixer" y se dejó en reposo. Luego se colocó 1 ml de la fase superior en un vial que contenía 20-50 mg. de ácido sílfico y se agitó por diez minutos. La mayor parte de la fase de heptano se trasvasó luego a un vial limpio y se

secó con flujo de nitrógeno. A la muestra seca se añadió 0.1 ml de solución CDI y se rotó el vial hasta que todo el residuo estuvo disuelto. Después de un minuto, se añadió 0.1 ml de solución TEA a la mezcla; así mismo se añadió 3 ml de la solución de NaOH un minuto (o más) después de añadir TEA. El vial se tapó inmediatamente y se agitó por dos minutos con un agitador mecánico. La tapa se perforó con una aguja para liberar la presión antes de separar el vial del agitador. En el fondo del vial se formó una gota de cloroformo. Con una jeringa de 10  $\mu$ l se tomaron 1-5  $\mu$ l y se inyectaron en la columna del cromatógrafo Tracor 222 (70). Las condiciones para cromatografía de ácidos grasos libres fueron las mismas a las empleadas para determinar ácidos grasos totales del plasma y del tejido adiposo.

d. Cuantificación e identificación de los ácidos grasos.

La composición en ácidos grasos de las muestras analizadas y el tiempo de retención de los ácidos grasos fue determinado automáticamente con un Integrador Hewlett-Packard, Modelo 3380.

## VI. RESULTADOS

La gráfica 1 presenta los pesos promedio (en gramos) a diferentes edades de las ratas alimentadas ad libitum (bien nutridas) y de las sometidas a ingesta restringida (desnutridas), controlada durante 16 semanas. Se puede observar que la velocidad de crecimiento de las ratas bien nutridas es mayor que la de las desnutridas. Las primeras alcanzan un peso de  $442 \pm 47.5$  g. ( $\bar{x} \pm D.E$ ) a las 16 semanas mientras que las ratas desnutridas, en el mismo período, alcanzan un peso de  $245 \pm 10.1$  g. ( $\bar{x} \pm D.E.$ ). El tipo de grasa en la dieta no tuvo ningún efecto sobre el peso.

La gráfica 2 muestra los resultados de concentración de AGL en sangre a lo largo de 5 horas después de administrar cafeína o solución salina I.P. a ratas adultas alimentadas con Purina Rat Chow. La cafeína produjo un aumento en la concentración de AGL que alcanzó un máximo entre 2 y tres horas.

Las gráficas 3 a 11 muestran cromatogramas típicos de la composición de ácidos grasos en los siguientes materiales: dieta H (gráfica 3) y dieta M (gráfica 4); AGT (gráficas 5 y 6) y AGL del plasma (gráficas 7 y 8) y AGT del tejido adiposo (gráficas 9 y 10) de ambos grupos de dieta. Como puede apreciarse, la separación de los distintos ácidos grasos es completa con excepción del ácido linoléico en los AGL del plasma y AGT del tejido adiposo de las ratas alimentadas

crónicamente con la dieta H. Para fines de cuantificación se aumentó la sensibilidad del electrómetro (gráfica 11) cuando las áreas de algunos ácidos grasos eran muy pequeñas.

La hidrogenación parcial del aceite de algodón da origen a isómeros de los ácidos grasos insaturados. El método empleado, sin embargo no es capaz de separar estos isómeros. Por esta razón, en el resto de la exposición todos los isómeros de ácidos grasos se denominaron como los isómeros naturales, previos al proceso de hidrogenación. La nomenclatura utilizada para nombrar los ácidos grasos insaturados es la aceptada para ácidos grasos naturales (71).

Los cuadros 1 al 17 presentan los valores individuales de los distintos ácidos grasos, expresados como porcentaje del total de AGL del plasma, o ácidos grasos totales (AGT) del plasma o AGT del tejido adiposo. Cada cuadro contiene los resultados de cada tratamiento en los dos grupos de ratas: bien nutridas y desnutridas. Se incluye también la interpretación del análisis de varianza utilizado para determinar la significación estadística de las diferencias observadas entre los tratamientos, analizando en forma separada las ratas bien nutridas y las desnutridas.

A Efecto de la Ingesta Crónica de Dietas Conteniendo Grasa Hidrogenada (H) o Aceite de Maíz (M)



Las gráficas 12 y 13 muestran la composición de ácidos grasos de las dietas y el efecto de la ingesta crónica de las dietas experimentales sobre la composición de los AGL y AGT del plasma y AGT del tejido adiposo en ratas bien nutridas. En la gráfica 12 se puede observar que la dieta M es rica en 18:2n6 y que los AGL y AGT del plasma y AGT del tejido adiposo también contienen 18:2n6 en cantidades altas. Además se debe destacar que los AGT del plasma contienen cantidades altas de 20:4n6 el cual no es detectable en los AGL del plasma ni en los AGT del tejido adiposo. En la gráfica 13 se puede observar que la dieta H, a diferencia de la dieta M, es rica en 18:1n9 y pobre en 18:2n6. Asimismo los AGL y AGT del plasma y AGT del tejido adiposo son ricos en 18:1n9 y pobres en 18:2n6. Además el 20:4n6 se encuentra en cantidades reducidas y hay 20:3n9 en los AGT del plasma.

Las gráficas 14 y 15 muestran el efecto de la ingesta crónica de las dietas experimentales sobre la composición de los AGL y AGT del plasma y AGT del tejido adiposo en ratas desnutridas. El efecto global de las dietas H y M en las ratas desnutridas es en general similar al efecto observado en las ratas bien nutridas, aunque hay algunas diferencias en cuanto a magnitud del efecto, lo cual será considerado a continuación.

Los cuadros 18 y 19 comparan la composición de los AGL y AGT del plasma y AGT del tejido adiposo entre ratas bien nutridas y desnutridas alimentadas con las dietas M o H

durante 16 semanas. Se consideran significativas las diferencias entre los grupos, si las pruebas de t arrojan una probabilidad menor de 5% ( $P < 0.05$ ) de que los valores sean iguales. En las ratas alimentadas 16 semanas con la dieta M se puede observar que en los AGL del plasma el porcentaje de 16:1n7 es mayor en las desnutridas y el porcentaje de 18:1n9 es mayor en las bien nutridas; en los AGT del plasma los porcentajes de 16:1n7 y 18:2n6 son mayores en las desnutridas y el porcentaje de 20:4n6 es mayor en las bien nutridas; en los AGT del tejido adiposo el porcentaje de 18:0 es mayor en las desnutridas. En las ratas alimentadas 16 semanas con la dieta H se puede observar que en los AGL del plasma el porcentaje de 16:0 es mayor en las desnutridas, mientras que los porcentajes de 16:1n7 y 18:2n6 son mayores en las bien nutridas; en los AGT del plasma los porcentajes de 16:1n7, 18:2n6 y 20:3n9 son mayores en las desnutridas, mientras que el porcentaje de 18:1n9 es mayor en las bien nutridas; en los AGT del tejido adiposo el porcentaje de 16:1n7 es mayor en las bien nutridas y los porcentajes de 18:0 y 18:1n9 son mayores en las desnutridas,

## B Efecto del Cambio Reciente de la Fuente de Ácidos Grasos y de la Estimulación de Lipólisis con Cafeína

### 1. Ácidos grasos libres del plasma.

Las gráficas 16 y 17 presentan el efecto del cambio

reciente de la fuente de ácidos grasos (H1 y M1) y de la estimulación con cafeína (H1C y M1C), en ratas bien nutridas.

En el grupo H1 se puede observar que el porcentaje de 18:1n9 disminuye y el de 18:2n6 aumenta (gráfica 17). En el grupo M1 se puede observar que el porcentaje de 18:1n9 aumenta y el de 18:2n6 disminuye. Cuando estas ratas (H1 y M1) fueron estimuladas con cafeína, no se produjo ningún cambio en la composición de los AGL del plasma.

Las gráficas 18 y 19 presentan el efecto del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos (H1 y M1) y de la estimulación con cafeína (H1C y M1C) en ratas desnutridas. En el grupo H1 se puede observar que el porcentaje de 16:1n7 y 18:1n9 disminuye, mientras que el porcentaje de 18:2n6 aumenta (gráfica 18). Cuando estas ratas (H1) son estimuladas con cafeína (H1C) en relación al grupo H1, los porcentajes de 16:1n7 y 18:1n9 aumentan y el porcentaje de 18:2n6 disminuye. En el grupo M1 se puede observar que el porcentaje de 18:1n9 aumenta y el porcentaje de 18:2n6 disminuye (gráfica 19). Cuando estas ratas (M1) son estimuladas con cafeína (M1C) el porcentaje de 18:1n9 disminuye y el de 18:2n6 aumenta.

En el cuadro 1 se puede observar que la estimulación con cafeína de ratas desnutridas alimentadas crónicamente con la dieta M, produce un aumento en el porcentaje de 16:0. Este es el único cambio que se produce en los AGL del plasma cuando

ratas alimentadas crónicamente con una dieta (H o M) son estimuladas con cafeína.

## 2. Ácidos Grasos Totales del Plasma

Las gráficas 20 y 21 muestran el efecto del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos (H1 y M1) y de la estimulación con cafeína (H1C y M1C) en ratas bien nutridas. El grupo H1 se puede observar que los porcentajes de 16:0 y 18:1n9 disminuyen y el 20:3n9 desaparece, mientras que los porcentajes de 16:1n7, 18:0 y 20:4n6 aumentan (gráfica 20). Cuando estas ratas (H1) son estimuladas con cafeína no se produce ningún cambio en la composición de los AGT del plasma. En el grupo M1 se puede observar que los porcentajes de 16:1n7 y 18:1n9 aumentan, mientras que el porcentaje de 18:0 disminuye (gráfica 21). Cuando a estas ratas (M1) se les estimula con cafeína se aprecia un descenso en el 16:0.

Las gráficas 22 y 23 muestran el efecto del cambio reciente en la ingesta de ácidos grasos (H1 y M1) y de la estimulación con cafeína (H1C y M1C) en ratas desnutridas. En el grupo H1 se puede observar que los porcentajes de 16:1n7 y 18:1n9 disminuyen y el 20:3n9 desaparece, mientras que los porcentajes de 18:0, 18:2n6 y 20:4n6 aumentan. Cuando a estas ratas (H1) se les estimula con cafeína, los porcentajes de 16:1n7 y 18:1n9 aumentan, mientras que el porcentaje de 18:2n6 disminuye (gráfica 22). En el grupo M1 los porcentajes de 16:0, 16:1n7 y 18:1n9 aumentan, mientras que

los porcentajes de 18:0, 18:2n6 y 20:4n6 disminuyen. Cuando a estas ratas (M1) se les estimula con cafeína los porcentajes de 16:0 y 18:1 9 disminuyen, mientras que los porcentajes de 18:2n6 y 20:4n6 aumentan (gráfica 23).

En el cuadro 9 se puede observar que en las ratas desnutridas alimentadas crónicamente con la dieta H, la estimulación con cafeína produce una disminución en el 18:1n9. Este es el único cambio que se produce en los AGT del plasma tanto en las ratas alimentadas crónicamente con dieta H como con dieta M.

### 3. Acidos Grasos Totales del Tejido Adiposo

Los cuadros del 13 al 17 muestran el efecto del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos, en ratas bien nutridas y desnutridas. En el grupo H1 se puede observar que el porcentaje de 16:0 disminuye en las ratas bien nutridas; el porcentaje de 18:1n9 disminuye en las ratas desnutridas, y el porcentaje de 18:2n6 aumenta tanto en las bien nutridas como en las desnutridas. En el grupo M1 el porcentaje de 16:1n7 aumenta en las bien nutridas; el porcentaje de 18:1n9 aumenta, y el porcentaje de 18:2n6 disminuye tanto en las bien nutridas como en las desnutridas.

### C Efecto de los Diferentes Tratamientos Sobre las Razones 18:1n9/18:2n6 y 18:2n6/20:4n6 en los ACidos Grasos de Ratas bien Nutridas y Desnutridas.

#### 1. Razón 18:1n9/18:2n6 en los AGL y AGT del plasma y AGT del tejido adiposo de ratas bien nutridas y desnutridas.

El cuadro 20 muestra que cuando a ratas alimentadas crónicamente con la dieta H se les dá la dieta M por tres días (H1), la razón 18:1n9/18:2n6 disminuye en los AGL y AGT del plasma y AGT del tejido adiposo. La estimulación con cafeína causa un aumento de la razón 18:1n9/18:2n6 en los AGT del plasma de ratas bien nutridas y en los AGL y AGT del plasma de ratas desnutridas. Cuando a las ratas alimentadas crónicamente con la dieta M se les da la dieta H por tres días (M1), la razón 18:1n9/18:2n6 aumenta en los AGL y AGT del plasma de las ratas tanto bien nutridas como desnutridas. Por el contrario, la estimulación con cafeína causa una disminución de la razón 18:1n9/18:2n6 en los AGL y AGT del plasma en las rata desnutridas.

#### 2. Razón 18:2n6/20:4n6 en AGT del plasma de las ratas bien nutridas y desnutridas.

En el cuadro 21 se puede observar que con excepción del grupo H, en todos los tratamientos la razón 18:2n6/20:4n6 es mayor en las ratas desnutridas. Además, es evidente que esta razón es menor en los animales que reciben dieta M ya sea crónicamente o únicamente durante 3 días (grupos H1). La administración de cafeína produce en todos los casos, una reducción en la razón 18:2n6/20:4n6 excepto en el grupo H1.



## VII. DISCUSION

A Generalidades

El uso de la rata como animal experimental en este estudio tiene ventajas y desventajas. La principal ventaja consiste en que la rata es un animal pequeño de crecimiento rápido que puede incorporar la grasa dietética a su tejido adiposo en un tiempo relativamente corto. De esta manera se puede obtener el modelo deseado, que consiste en tener un animal cuyo tejido adiposo refleje la ingesta crónica de ácidos grasos. Este proceso tomaría más tiempo si se quisiera llevar a cabo en animales grandes, ya que tienen mayores reservas en el tejido adiposo provenientes de la madre y además el tiempo para llegar a ser un animal adulto es mayor. La desventaja más sobresaliente es el hecho de que las muestras antes y después de estimulación con cafeína no se pueden tomar del mismo animal, ya que se necesitan aproximadamente 7 ml de sangre para los análisis, volumen que representa un porcentaje considerable del total de sangre de la rata.

En esta experiencia se ha encontrado que la variabilidad entre ratas a veces es bastante grande, principalmente en cuanto a la composición de los ácidos grasos totales (AGT) del plasma y AGL del plasma, a pesar de que los animales son de una cepa pura y que recibieron tratamientos iguales dentro de cada grupo de dieta y de estado nutricional.

En vista de que uno de los objetivos principales de este estudio fue la comparación entre ratas bien nutridas y desnutridas, fue necesario demostrar que el grado de restricción dietética a la que fue sometido uno de los grupos, efectivamente los llevó a un estado de desnutrición crónica. Al comparar las curvas de peso entre las ratas alimentadas ad libitum (bien nutridas) y las sometidas a ingesta restringida (desnutridas), se puede observar que de acuerdo a este parámetro (72), las ratas sometidas a ingesta restringida en efecto llegaron a ser desnutridas, ya que su tasa de crecimiento fue menor. Además al final de las 16 semanas pesaron aproximadamente el 50% de lo que pesaron las ratas alimentadas ad libitum.

Al administrar cafeína a un grupo de ratas adultas para estudiar su efecto lipolítico, se observó que aproximadamente a las 3 horas después de haber administrado la dosis de cafeína I.P. se obtuvo el máximo efecto lipolítico y a las 5 horas los niveles de AGL fueron similares a los observados en el período basal. Este resultado es similar al obtenido por Bellet (47) en perros después de la administración I.M. de cafeína y en humanos después de tomar una taza de café.

En los experimentos posteriores, la muestra de sangre se colectó 4 1/2 horas después de la administración con cafeína

ya que si el "pool" lábil es pequeño como postula Hirsch (23) es posible que estimulando el tejido adiposo por suficiente tiempo este "pool" disminuya o se agote. Además, los trabajos in vitro realizados por Zinder (33) indican que en adipocitos aislados, el "pool" lábil se equilibra con el "pool" estable cuando los adipocitos son estimulados con epinefrina por 3 horas. Basados en estas consideraciones, los AGL del plasma a las 4 1/2 horas post-estimulación con cafeína deberían reflejar el "pool" estable de ácidos grasos del tejido adiposo y, en consecuencia, deberían permitir identificar mejor la ingesta crónica de ácidos grasos.

#### B Ingesta Crónica de Dietas con Diferente Composición de Ácidos Grasos.

Este estudio demuestra que cuando ratas son alimentadas con una dieta determinada durante 16 semanas desde el destete, la composición de los AGL y AGT del plasma y AGT del tejido adiposo reflejan la composición de los ácidos grasos de la dieta. En efecto, al final de las 16 semanas se encontraron diferencias claras, tanto en ratas bien nutridas como en ratas desnutridas, entre las alimentadas desde el destete con la dieta H (rica en 18:1n9) y las alimentadas con la dieta M (rica en 18:2n6).

Si se comparan las composiciones de AGT del tejido adiposo, y AGL y AGT del plasma con el patrón de ácidos grasos de la dieta, se puede observar que los AGT del tejido adiposo son los que mejor reflejan la ingesta crónica de ácidos grasos, seguido por los AGL del plasma (gráficas 12 a 15). La composición de los AGL del plasma se diferencia del patrón de ácidos grasos de la dieta, porque los AGL resultan de la combinación de los ácidos grasos sintetizados por el animal y de los ácidos grasos de la dieta, que se acumulan en el "pool" lábil, en donde, de acuerdo a Kerpel (26), los últimos ácidos grasos en entrar son los primeros en salir. La principal característica que se puede observar en los AGT del plasma es la presencia de los ácidos grasos de cadena larga, 20:4n6 y 20:3n9, los cuales no son detectables ni en el tejido adiposo ni en los AGL del plasma. Esto se puede explicar en base a que los AGT del plasma en ayunas se encuentran distribuidos en varias fracciones de lípidos de la siguiente manera: 45% Triglicéridos, 35% Fosfolípidos, 15% esteres de colesterol y menos del 5% en AGL (72). Los fosfolípidos y esteres de colesterol tienen en su estructura cantidad considerable de ácidos grasos insaturados de cadena larga que generalmente son 20:4n6 ó 20:3n9.



Los resultados obtenidos al comparar la composición de AGT del tejido adiposo, y AGL y AGT del plasma entre ratas bien nutridas y desnutridas alimentadas 16 semanas con la misma dieta, demuestran que el estado nutricional juega un papel importante en determinar la composición de ácidos grasos de estas clases lipídicas (cuadros 18 y 19) ya que se obtuvieron diferencias entre los dos grupos. Además de presentarse un efecto del estado nutricional sobre la composición de ácidos grasos, se puede observar que este efecto depende de la composición en ácidos grasos de la dieta, ya que los ácidos grasos en que se diferencian las ratas bien nutridas y desnutridas varían si se trata de la dieta H o M ya sea en AGT del tejido adiposo o AGL y AGT del plasma. Se encuentran más diferencias entre bien nutridas y desnutridas cuando el ácido 18:2n6 se encuentra en cantidades bajas en los ácidos grasos de la dieta (dieta H); esto quizás se debe a que la ingesta baja de AGE aumenta la lipogénesis (74) y la actividad de las desaturasas (75), efectos que pueden ser también de diferente magnitud entre ratas bien nutridas y desnutridas.

Al comparar la composición de ácidos grasos de las ratas bien nutridas con las desnutridas, se observó que en ratas alimentadas crónicamente con la misma dieta con respecto a ácidos grasos, las desnutridas tienden a tener

porcentajes más altos de 18:2n6 en los AGT del plasma, y que el porcentaje de 20:4n6 es igual o menor que en las ratas bien nutridas. Se debe destacar también que en los casos que se pudo determinar la relación 20:3n9/20:4n6 en los AGT del plasma (grupo H), ésta fue mayor en ratas desnutridas (0.29) que en las bien nutridas (0.16). Sin embargo, la poca diferencia en cuanto a la composición del tejido adiposo entre ratas bien nutridas y desnutridas en la misma dieta, indica que el estado nutricional crónico en ácidos grasos es similar (22, 23). Estos resultados sugieren que hay cierto impedimento en la producción de 20:4n6 y estimulación en la producción de 20:3n9 en ratas desnutridas. Podría arguirse, sin embargo, que la mayor relación 20:3n9/20:4n6 en AGT plasmáticos en el caso de ratas desnutridas alimentadas crónicamente con la dieta H y la menor cantidad de 20:4n6 en AGT plasmáticos en ratas desnutridas alimentadas crónicamente con la dieta M, indican que las ratas bien nutridas se encuentran en mejor estado de nutrición con respecto a AGE. Estos resultados no están de acuerdo con los obtenidos por Patil y Hansen (62) en perros ya que estos investigadores encontraron niveles más bajos de 20:3n9 en animales desnutridos y en base a esto postulan que el requerimiento de AGE en términos de porcentaje de las calorías totales

es menor en animales con ingesta calórica baja, aunque ellos no dan datos de la composición de las reservas del tejido adiposo. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio son similares a los publicados por Guidry y Méndez (64) en los que se observa siempre un porcentaje menor de 20:4n6 y mayor de 20:3n9 en los indígenas de Guatemala (desnutridos) comparado con individuos de Nueva Orleans (bien nutridos) a pesar de que ambos grupos tienen niveles plasmáticos similares de 18:2n6.

#### C Cambio Reciente en la Ingesta de Ácidos Grasos y Estimulación con Cafeína.

##### 1. Ratas bien nutridas

En ratas bien nutridas se puede observar (gráficas 16 y 17 que el cambio de dieta produce cambios pequeños en la composición de los AGL del plasma. Estos cambios son sólo en los ácidos grasos en que las dietas son más diferentes (18:1n9 y 18:2n6). En cuanto a la magnitud de los cambios, estos resultados son diferentes a los obtenidos por Heimberg (25) quien observó cambios drásticos en los AGL horas después de la ingestión de una mezcla de leche con aceite. Esto quizás se debe a que los adipocitos de ratas bien nutridas tienen gran cantidad de grasa acumulada, de manera que la ingesta reciente de grasa

forma un "pool" lábil que debe ser relativamente más pequeño que el de ratas con menor grasa acumulada. Como durante el período de ayuno (16 horas) hay liberación de epinefrina, es posible que la estimulación continua del tejido adiposo haya disminuido el tamaño del "pool" lábil de manera que su influencia en la composición de los AGL del plasma es pequeña.

Cuando las ratas bien nutridas fueron sometidas por 3 días a un cambio en fuente de ácidos grasos y luego fueron estimuladas con cafeína no se produjo ningún cambio adicional en la composición de AGL del plasma. Esto quizás se debe a que, como sugieren los cambios pequeños en la composición de AGL del plasma en ayunas, el efecto adicional de la lipólisis inducida por la cafeína movilizó ácidos grasos pertenecientes a un "pool" único que tenía ya una composición dictada sobre todo por la ingesta crónica de ácidos grasos.

A diferencia del efecto sobre los AGL del plasma producido por el cambio reciente en la ingesta de ácidos grasos, los AGL del plasma sí experimentaron cambios bastante drásticos (gráficas 20 y 21): Las ratas alimentadas crónicamente con la dieta H que recibieron la dieta M por 3 días presentaron los cambios más notables ya que al

al cambiar la fuente de grasa en la dieta, el 20:3n9 que se encontraba en cantidades pequeñas en las ratas alimentadas crónicamente con la dieta H ya no fue detectable y el 20:4n6 que se encontraba en bajo porcentaje, aumentó a los niveles de las ratas que desde el destete recibieron la dieta M. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Walker (16) en los que demuestra que si a ratas alimentadas crónicamente con una dieta baja en AGE (aceite de maíz) se producen cambios drásticos en los AGT del plasma en corto tiempo. En el sentido inverso, o sea, cuando a las ratas alimentadas crónicamente con la dieta M, se les da la dieta H por 3 días se producen cambios en la composición de AGT del plasma pero de menor magnitud a los producidos por el cambio de H a M; también se puede observar que el 20:3n9 no aparece y que el 20:4n6 no disminuye con el cambio de dieta. Además hay que destacar que en ambos casos los cambios producidos en los otros ácidos grasos como 18:0, 18:1n9 y 18:2n6; son siempre tendiendo a parecerse a los AGT del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la nueva dieta.

Cuando las ratas a las cuales se les cambió la dieta son estimuladas con cafeína, no se producen cambios adicionales significativos en la composición de los AGT del plasma.

Esto puede deberse a que la estimulación con cafeína no produce cambios en la composición de los AGL del plasma, los cuales en ayuno, y más aún después de la estimulación con cafeína, son la principal fuente de AGT del plasma provenientes del hígado en forma de lipoproteínas (76, 77). Si a esta posibilidad se agrega el hecho que el recambio de los TG, PL y E de C (que son las fracciones más importantes de lípidos plasmáticos que contienen ácidos grasos) es mucho más lento que el de los AGL del plasma, es fácil explicar el porqué la composición de los AGT plasmáticos permanece alterado por más tiempo.

Los resultados obtenidos en los AGT al introducir cambios en la ingesta reciente de ácidos grasos, sugieren que la presencia de 20:3n9 en el plasma indica una ingesta tanto crónica como reciente baja en AGE, ya que no aparece en ratas con ingesta crónica alta y reciente baja, ni con ingesta crónica baja y reciente alta de AGE.

De todo lo observado en ratas bien nutridas se puede inferir que, aparte de lo ya indicado en el caso del 20:3n9, la composición de los AGT del plasma no es un buen indicador de estado nutricional con respecto a AGE, ya que es susceptible a cambiar con la ingesta reciente de ácidos grasos. En vista de que la composición de AGL del plasma en animales bien nutridos es poco susceptible a cambiar con la



ingesta reciente de ácidos grasos, se puede considerar que es un mejor indicador de la ingesta crónica de AGE que los AGT del plasma.

En el tejido adiposo de ratas bien nutridas se producen cambios cuando la ingesta reciente de ácidos grasos es diferente a la usual (cuadros 13, 14, 15, 16 y 17). Sin embargo, estos cambios, aunque son estadísticamente significativos, son muy pequeños. Si se comparan los cambios ocurridos en los AGT del tejido adiposo con los AGL y AGT del plasma, se puede decir que el tejido adiposo es el menos susceptible de reflejar cambios de dieta.

## 2. Ratas Desnutridas

El cambio reciente en el tipo de grasa de la dieta causa cambios significativos en la composición de AGL del plasma en ratas desnutridas (Gráficas 18 y 19). Estos cambios ocurren principalmente en los ácidos 16:1n7, 18:1n9 y 18:2n6 de los AGL en condiciones basales que son los ácidos grasos en que más se diferencian las dietas. Si se compara la composición de AGL del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la dieta H con el de ratas alimentadas crónicamente con la dieta M más tres días la dieta H (M1), se puede observar que con el cambio de dieta, la composición de los AGL del grupo M1 tiende a parecerse a la del grupo H. Los resultados

obtenidos con el grupo H, muestran también que la composición de los AGL en ayunas es similar a la del grupo M; es decir, refleja el tipo de dieta conteniendo aceite de maíz y no el de la dieta hidrogenada (H). Estos resultados indican claramente que la ingesta reciente de ácidos grasos diferentes a los ingeridos crónicamente, hace variar notablemente la composición de AGL del plasma en ratas desnutridas, tendiendo a parecerse a la composición que tienen ratas alimentadas crónicamente con la dieta ingerida recientemente en los grupos H1 y M1. Esto concuerda con la hipótesis postulada por Hirsch y colaboradores (23) y con los resultados obtenidos por Heimberg (25) y quizás se deben a que, como las ratas desnutridas tienen poca grasa y adipocitos pequeños, la grasa reciente forma un "pool" lábil relativamente mayor que el formado en ratas bien nutridas.

Cuando los grupos de ratas a los cuales se les cambió la dieta (H1 y M1) fueron, además estimulados con cafeína, la composición de los AGL del plasma cambia, tendiendo a parecerse a la de los AGL del plasma que tenían las ratas antes de ser sometidas a la nueva dieta y contrasta con la composición de los AGL en ayunas. Esto indica que la estimulación con cafeína puede invertir el efecto producido

por la ingesta reciente de ácidos grasos, aunque esta inversión no llega a reproducir los niveles de ácidos grasos que tenían los AGL en los animales antes de que se les cambiara la dieta.

El efecto producido por la cafeína puede deberse a:

1) Los adipocitos pequeños son más sensibles a la estimulación con sustancias lipolíticas ya que hay un aumento en la actividad Adenilciclase (61); 2) La estimulación con cafeína no causa hidrólisis preferencial de los TG del "pool" lábil; 3) Como uno de los efectos de la cafeína es estimular el sistema nervioso central, se libera epinefrina y de acuerdo a Zinder (33) en adipocitos aislados después de tres horas de estimulación con epinefrina se llega al equilibrio en composición de ácidos grasos.

En las gráficas 22 y 23 se puede observar que la composición de AGT del plasma, cambia drásticamente cuando a ratas que han recibido una dieta durante 16 semanas se les cambia el tipo de ácidos grasos de la dieta por tres días. Al comparar la composición de AGT de las ratas alimentadas dieciseis semanas con la dieta H (H) con la de las alimentadas dieciseis semanas con la dieta M más tres días la dieta H (M1) se nota que ambas son prácticamente iguales.

También son bastante similares las composiciones de AGT del plasma de ratas alimentadas dieciseis semanas con la dieta M (M) con las de las ratas alimentadas dieciseis semanas con la dieta H más tres días la dieta M (H1).

Cuando a ratas a las cuales se les cambió la dieta fueron estimuladas con cafeína, la composición de AGT del plasma tendió a parecerse a la que tenían antes del cambio de dieta.

Los resultados obtenidos con los AGL y AGT del plasma son bastante similares en cuanto a los efectos del cambio de dieta y estimulación con cafeína. Parece, sin embargo, que los AGT son más afectados por la ingesta reciente de ácidos grasos que los AGL, ya que al ingerir la nueva dieta por tres días, la composición de los primeros es muy similar a la de ratas que han ingerido esa dieta crónicamente.

En cuanto a cambios en 20:4n6 y 20:3n9, se puede decir que cuando ratas que han recibido crónicamente una dieta rica en AGE son cambiadas a una dieta pobre en AGE el porcentaje de 20:4n6 disminuye pero no aparece el 20:3n9; mientras que cuando a las ratas que han sido alimentadas crónicamente con la dieta pobre en AGE se les da la dieta rica en

AGE el porcentaje de 20:4n6 aumenta a los niveles observados en ratas que han recibido la dieta rica en AGE crónicamente y el 20:3n9 desaparece. Al estimular la lipólisis con cafeína en estas ratas el porcentaje de 20:4n6 en los AGT del plasma permanece constantemente alto. Esto quizás se debe a que en ratas con ingesta baja en AGE la actividad de desaturasas es alta (75) y por esta razón cuando hay suficiente substrato disponible (18:2n6) se mantienen altos los niveles de 20:4n6.

Los cambios observados entre la composición de AGL y AGT del plasma en ayunas con la de las mismas fracciones lípidas después de la administración con cafeína pueden tener un importante significado con respecto al estado de nutrición energética del animal. En efecto; en ratas desnutridas con cambio reciente de dieta la estimulación con cafeína modifica la composición de los AGL y AGT del plasma, cosa que no ocurre en ratas bien nutridas.

Los resultados obtenidos con ratas desnutridas sugieren que los AGT y AGL del plasma no son buenos indicadores de estado nutricional con respecto a AGE, ya que estas fracciones son muy susceptibles a cambiar con la ingesta reciente de ácidos grasos. Sin embargo, la composición de los AGT y AGL del plasma después de la estimulación con cafeína es

mejor indicador de ingesta crónica de AGE, en base a lo siguiente: a) la estimulación invierte en parte el efecto causado por la ingesta reciente de grasa más evidente en los AGL, aunque no anula el aumento de 20:4n6 en los AGT del plasma causado por una ingesta reciente alta en AGE (grupo H1). b) la presencia de 20:3n9 en los AGT de ratas estimuladas o nó, indica una ingesta tanto crónica como reciente baja en AGE, al igual que en las ratas bien nutrida del grupo H; y c) la relación trieno/tetraeno tiende a ser mayor en ratas desnutridas debido a la menor concentración de 20:4n6 y esto puede interpretarse como que existe una mayor deficiencia de AGE que quizás no es real.

En las ratas desnutridas se puede observar que la composición de AGT del tejido adiposo, cambia levemente cuando se producen cambios drásticos en el tipo de ácidos grasos de la dieta (cuadros 13, 14, 15, 16 y 17). Sólo en el 18:2n6 se producen cambios considerables cuando ratas alimentadas crónicamente con la dieta H son cambiadas a la dieta M por tres días. Al igual que en el caso de las ratas bien nutridas, se observa que el tejido adiposo es menos susceptible al cambio de dieta que los AGL y AGT del plasma.



Los cambios en la composición de ácidos grasos de la dieta en ratas bien nutridas y desnutridas producen resultados que se pueden interpretar así: la ingestión reciente de aceite de maíz corrige rápidamente el cuadro bioquímico de deficiencia obtenido con la ingesta crónica de grasa hidrogenada, en base a la desaparición del 20:3n9 y a la elevación de 20:4n6 en los AGT del plasma y a la elevación de 18:2n6 en los AGL y AGT del plasma.

Lo opuesto, es decir la ingesta reciente de grasa hidrogenada por ratas que han ingerido crónicamente una dieta conteniendo aceite de maíz no produce ninguna indicación bioquímica de deficiencia de AGE, aunque esta situación en ratas desnutridas produce cambios que sugieren mayor susceptibilidad a desarrollar deficiencia de AGE que en ratas bien nutridas, ya que el ácido 20:4n6 disminuye rápidamente.

#### D Relación 18:1n9/18:2n6 y 18:2n6/20:4n6

Los ácidos grasos que sufren más cambios con los diferentes tratamientos son 18:1n9 y 18:2n6, debido a que estos son los ácidos grasos en que más se diferencian las dietas. Cuando uno de ellos aumenta, el otro disminuye y por lo tanto, la relación 18:1n9/18:2n6 (cuadro 20) debe ser susceptible a cambios mayores que los producidos en los ácidos grasos individuales. Por lo tanto, se pensó

que la relación 18:1n9/18:2n6 podía hacer evidentes algunos cambios que no eran significativos observando los ácidos grasos individuales. Los resultados demuestran que el comportamiento de la relación 18:1n9/18:2n6 a través de todos los tratamientos, magnifica los cambios observados en la composición de ácidos grasos individuales. Esto es importante ya que es más fácil trabajar con un valor (18:1n9/18:2n6) que con la composición total.

El cuadro 21 muestra que en todos los tratamientos la relación 18:2n6/20:4n6 en los AGT del plasma es mayor en ratas desnutridas. Esto indica que a pesar de ser el 18:2n6 el precursor del 20:4n6, en las ratas desnutridas disminuye la eficiencia de conversión.

#### E Conclusión

En resumen, se puede concluir que en ratas bien nutridas y desnutridas el mejor indicador de la ingesta crónica de AGE es la composición en ácidos grasos del tejido adiposo, ya que es más susceptible a reflejar la fuente de ácidos grasos de la dieta. En ratas bien nutridas los AGL y los AGT del plasma en ayunas se complementan como indicadores del estado nutricional con respecto a AGE: por un lado, la composición de los AGL del plasma cambia poco con la ingesta reciente de tipos distintos de grasa; y por el otro, la presencia de 20:3n9 en los AGT del plasma indica una ingesta

pobre de AGE tanto reciente como crónica. En las ratas desnutridas el cambio que se observa en la composición de los AGL del plasma entre la muestra en ayunas y la obtenida después de estimulación con cafeína, acompañado de la composición de los AGT del plasma resultan los mejores indicadores del estado nutricional con respecto a AGE, ya que la cafeína invierte en parte el efecto producido por el cambio reciente en la fuente de ácidos grasos en ambas clases de lípidos plasmáticos. Además, en los AGT del plasma se encuentra 20:3n9 que, como indicamos anteriormente, indica ingesta crónica y reciente baja en AGE. Las relaciones entre los ácidos grasos más importantes (18:1n9/18:2n6 y 18:2n6/20:4n6) son mejores indicadores de los cambios que ocurren en los niveles individuales de todos los ácidos grasos y además son valores más manejables.

Este estudio se realizó con miras a la posible aplicación de las técnicas aquí desarrolladas, a estudios del estado nutricional crónico de AGE en poblaciones humanas. Por lo tanto, el indicador a utilizar debe ser aquel que además de reflejar la ingesta crónica de AGE, facilite la obtención y análisis de la muestra. En humanos se pueden obtener biopsias del tejido adiposo por el método de Hirsch (23), pero es mucho más fácil obtener muestras de sangre. Por lo tanto, este estudio sugiere que posiblemente el indicador

más recomendable para determinar la ingestión crónica de AGE tanto como el estado de nutrición energética de poblaciones (y sus reservas adiposas), es la determinación de AGL y AGT en el plasma antes y después de una taza de café. El estado de nutrición energética crónica se podría obtener al administrar por 2 ó 3 días una dieta conteniendo cantidades bajas de AGE y medir los ácidos grasos de AGL en ayunas. Una comprobación de pobres reservas de grasa se lograría con la estimulación con cafeína ya que se esperarían mayores cambios en composición de AGL en sujetos con bajas reservas adiposas.



Este trabajo tiene por objeto desarrollar las bases para una prueba diagnóstico que refleje fielmente la ingesta crónica de ácidos grasos en poblaciones, evitando o disminuyendo la interferencia causada por la ingesta reciente de una dieta con contenido de ácidos grasos diferente al de la dieta usual.

El indicador más usado en la actualidad para determinar la deficiencia de AGE, es la relación trieno/tetraeno en los ácidos grasos totales del plasma. Una relación mayor de 0.4 es considerada indicativa de deficiencia de AGE. Además, la proporción de ácidos grasos en las diversas clases de lípidos circulantes varía según el contenido de ácidos grasos de la dieta usual. En general, la proporción de los diversos ácidos grasos en los AGT y AGL del plasma, tienden a reflejar la composición de la grasa del tejido adiposo, la cual a su vez refleja la composición de la grasa de la dieta usual. Sin embargo, se ha demostrado que la proporción de los diversos ácidos grasos plasmáticos es susceptible a variar si ocurren cambios recientes en la composición de la grasa de la dieta, oscureciendo así la situación establecida por la dieta crónica.

Se consideró en este estudio que el efecto de la ingesta reciente ya descrito se podría evitar o minimizar por medio de la inducción de lipólisis con cafeína, con el objeto de movilizar los ácidos grasos más recientemente ingeridos. Por lo tanto, si se determinan las proporciones de ácidos grasos

en los AGL y AGT del plasma posteriores a la lipólisis, estos deberían reflejar mejor la composición de la grasa depositada crónicamente.

Como en animales con ingesta dietética restringida (desnutridos) el número de adipocitos es menor y además estos son más pequeños, se pensó que podría haber diferencia en cuanto al efecto producido por la estimulación con cafeína, en relación a animales con mayor cantidad de grasa adiposa. La base para considerar esta posibilidad es que la acción de las hormonas sobre el adipocito es a través de receptores que se encuentran localizados en las membranas. Así la velocidad de la lipólisis mediada por cAMP y de la lipogénesis está determinada por el área de la membrana de la célula. Por lo tanto el número de células adiposas, su tamaño y el total de superficie celular existente son factores que determinan la actividad metabólica del tejido adiposo.

Para demostrar las hipótesis planteadas, se tomaron 96 ratas machos recién destetados de la raza Wistar y se distribuyeron en 2 grandes grupos de 48 ratas cada uno. Un grupo fue alimentado ad libitum (bien nutridas) y el otro se mantuvo con una ingesta restringida (desnutridas). Cada grupo de 48 ratas se redistribuyó en 2 subgrupos de 24 ratas cada uno. Uno de ellos fue alimentado con una dieta que contenía como única fuente de grasa aceite de algodón hidrogenado (H) y el otro con una dieta conteniendo como

única fuente de grasa, aceite Mazola (M). A las 16 semanas se tomaron 12 ratas de cada sub-grupo (H y M) y fueron alimentadas 3 días con dietas conteniendo grasa de Mazola al grupo H (H1) o grasa hidrogenada al grupo M (M1). A 6 ratas de cada grupo de 12 (grupos H, M, H1 y M1) se les administró solución salina I.P. y a las otras 6 una dosis de cafeína I.P. Después de 4 1/2 horas se colectaron aproximadamente 10 ml de sangre de la aorta abdominal, para determinar la composición de AGL y AGT del plasma post-lipólisis. Además se tomaron muestras de grasa del epidídimo para determinar la composición de AGT del tejido adiposo.

Los resultados obtenidos demuestran lo siguiente:

- 1) Cuando ratas son alimentadas con una dieta determinada durante 16 semanas desde el destete, la composición de los AGL y AGT del plasma y AGT del tejido adiposo, reflejan la composición de los ácidos grasos de la dieta. La composición de AGT del tejido adiposo refleja más fielmente la ingesta crónica de ácidos grasos.
- 2) El estado nutricional juega un papel importante en determinar la composición de ácidos grasos, en los AGL y AGT del plasma y AGT del tejido adiposo. Lo más sobresaliente es el hecho de que en ratas alimentadas crónicamente con la misma dieta con respecto a ácidos grasos, las desnutridas tienden a tener porcentajes más altos de 18:2n6 e iguales o más bajos de 20:4n6, a pesar de que el 18:2n6 es el precursor del

20:4n6. También, en los animales alimentados crónicamente con la dieta conteniendo únicamente grasa hidrogenada (grupo H) la relación 20:3n9/20:4n6 en los AGT del plasma fue mayor en ratas desnutridas (0.29) que en bien nutridas (0.16), aunque en ambos grupos esta relación sugiere un estado marginal de deficiencia de AGE.

- 3) En ratas bien nutridas, los cambios recientes en el tipo de ácidos grasos de la dieta casi no alteran la composición de los AGL del plasma y AGT del tejido adiposo, pero producen cambios marcados en la composición de AGT del plasma. Cuando las ratas a las que se les cambió la dieta fueron estimuladas con cafeína no se produjeron cambios adicionales en la composición de AGL y AGT del plasma.
- 4) En ratas desnutridas, los cambios recientes en el tipo de ácidos grasos de la dieta, produjeron cambios marcados en la composición de AGL y AGT del plasma. Cuando estas ratas fueron, además estimuladas con cafeína la composición de los AGL y AGT cambió tendiendo a parecerse a la composición de ácidos grasos que tenían antes de ser sometidas a la nueva dieta.
- 5) La relación de los ácidos grasos más importantes (18:1n9/18:2n6) en los AGL y AGT del plasma y en los AGT del tejido adiposo, muestra más evitentemente las diferencias en composición total de ácidos grasos.

- 6) La relación trieno/tetraeno en los AGT del plasma en ayunas es un buen indicador de una ingestión baja de AGE (tanto crónica como reciente), independiente del estado nutricional de los animales, aunque es más sensible en los animales desnutridos.
- 7) En animales del grupo H la ingesta reciente de aceite de maíz hace desaparecer el ácido 20:3n9. Por el contrario la ingesta reciente de grasa hidrogenada por animales del grupo M no resulta en la aparición del ácido 20:3n9 en los AGT del plasma. Estos cambios ocurren independientemente del estado de nutrición crónico de los animales.

De esto se concluye que en ratas bien nutridas y desnutridas el mejor indicador de la ingesta crónica de AGE es la composición en ácidos grasos del tejido adiposo. En ratas bien nutridas los AGL y los AGT del plasma en ayunas se complementan como indicadores del estado nutricional con respecto a AGE ya que los AGL reflejan mejor la composición del tejido adiposo y los AGT muestran alteración de la razón trieno/tetraeno en caso de deficiencia de AGE. En las ratas desnutridas el cambio que se observó en la composición de los AGL del plasma entre la muestra en ayunas y la obtenida después de la estimulación con cafeína, acompañado de la composición de los AGT del plasma resultan los mejores indicadores del estado nutricional con respecto a AGE, ya que la cafeína invierte en parte el efecto producido por el cambio reciente en la fuente

de ácidos grasos en ambas. Además, en los AGT del plasma se encuentra el 20:3n9 cuya presencia indica ingesta, tanto crónica como reciente, baja en AGE. La relación entre los ácidos grasos más importantes (18:1n9/18:2n6) es mejor indicadora de los cambios que ocurren en los niveles individuales de todos los ácidos grasos y además esta razón es más fácil de manejar.

Este estudio sugiere que posiblemente el indicador más recomendable para determinar la ingestión crónica de AGE tanto como el estado de nutrición energética de poblaciones, es la determinación de AGL y AGT en el plasma antes y después de una taza de café.



## IX. BIBLIOGRAFIA

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations y World Health Organization. (1977) "Dietary fats and oils in human nutrition". Roma. p.69 (FAO/OMS Nutritional Studies No. 3)
2. Burr, G.O. y M.M. Burr. (1929) "A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet". J. Biol. Chem. 82,345-367.
3. Burr, G.O. y M.M. Burr. (1930) "On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition". J. Biol. Chem. 86,587-621.
4. Hansen, A.E.; H.F. Weise, A.N. Bielshe, M.E. Haggard, D.I.D. Adams y H. Davis. (1963) "Role of linoleic acid in infant nutrition; clinical and chemical study of 428 infants fed on milk mixtures varying in kind and amount of fat. Pediatrics 31(supl 1 pt 2);171.
5. Food and Agriculture Organization of the United Nations y World Health Organization. (1977) "Dietary fats and oils in human nutrition". Roma p.27 (FAO/OMS Nutritional Studies No. 3)
6. Naismith, D.J. (1973) "Kwashiorkor in Western Nigeria; a study of traditional weaning foods, with particular reference to energy and linoleic acid". Br. J. Nutr. 30,567-576.
7. Holman, R.T. (1960) "Factor influencing the requirements for polyunsaturated fatty acids." Am. J. Clin. Nutr. 8,403.
8. Holman, R. T.; W.O. Caster y F. Weiser. (1964) "The essential fatty acids requirements of infants and the assessment of their dietary intake of linoleate by serum fatty acid analysis". Am. J. Clin. Nutr. 14, 70-75.
9. Homan, R.T. (1964) "Nutritional and metabolic interrelationships between fatty acids". Fed. Proc. 23,1062-1067.
10. Collins, F.D.; A.J. Sinclair, J.P. Royle, D.A. Coats, A.T. Maynard y R.F. Leonard. (1971) "Plasma lipids in human linoleic deficiency". Nutr. Metab. 13,150-167.
11. Paulsrud, J.R.; L. Pensler, C.F. Whitten, S. Stewart y R.T. Holman. (1972) "Essential fatty acid deficiency in infants induced by fat-free intravenous feeding". Am. J. Clin. Nutr. 25,897-904.
12. Caldwell, M.D.; H.T. Jonsson y H.B. Ohtersen Jr. (1972) "Essential fatty acid deficiency in an infant receiving prolonged parenteral alimentation". J. Pediatric 81,894-989.
13. Helmkamp, G.M. Jr.; D.W. Wilmore, A.A. Johnson y B.A. Pruitt. (1973) "Essential fatty acid deficiency in red cell after thermal injury; correction with intravenous fat therapy". Am. J. Clin. Nutr. 26, 1331-1338.
14. Riella, M.C.; J.W. Broviac, M. Weiss y B.H. Scribner. (1975). "Essential fatty acids deficiency in human adults during parenteral nutrition". Ann. Intern. Med. 83, 786-789.
15. Wene, J.D.; W.E. Connor y B.L. Den. (1975) "The development of essential fatty acid deficiency in health men fat-free diets intravenously and orally". J. Clin. Invest. 56,127-134.
16. Walker, B.L. (1967) "Recovery of rat tissue lipids from essential fatty acid deficiency; plasma, erythrocytes and liver". J. Nutr. 92,23-29.
17. Brenner, R.R. (1974) "The oxidative desaturation on unsaturated fatty acids in animals" Mol. Cell. Biochem. 3,41-52.
18. Privett, O.S., E.M. Stearns Jr. y E.C. Nickell. (1967) "Metabolins of geometric isomers of linoleic acid in rat". J. Nutr. 92,303-310.
19. Brenner, R.R. y R.O. Peluffo. (1969) "Regulation of unsaturated fatty acids biosynthesis; I. Effect of unsaturated fatty acid of 18 carbons on the  $\gamma$ -linolenic acid". Biochim. Biophys. Acta, 176,471-479.
20. Anderson, R.L.; C.S. Fullmer y E.J. Hellenbach. (1976) "Effects on trans isomers of linoleic acid on the metabolism of linoleic acid in rats". J. Nutr. 105,393-400.
21. Century, B.; L.A. Witting, C.C. Harvey y M.K. Horwitt. (1963) "Interrelationships of dietary lipids upon fatty acid composition of brain mitochondria, erythrocytes and heart tissue in chicks". Am. J. Clin. Nutr. 13,362-368.

22. Horwitt, M.D. (1974) "Status of human requirements for vitamin E". Am. J. Clin. Nutr. 27,1182-1193.
23. Hirsch, J., J.W. Farguhar, E.H. Anrens, M.L. Peterson y W.S. Stoffel. (1960) "Studies of adipose tissue in man a microtechnic for sampling and analysis". Am. J. Clin. Nutr. 8,499-511.
24. Mayes, P. (1975) "Metabolism" Lipid. En: Harper, H.A. ed. Review of Physiological Chemistry. 15th ed. Los Altos, California Large Medical Publications. 1975. p. 300
25. Hemberg, M.; G.D. Dunn y H.G. Wilcox. (1974) "The derivation of plasma-free fatty acids from dietary neutral fat in man". J. Lab. Clin. Med. 83,393-402.
26. Kerpel, S.; E. Shafir y B. Shapiro. (1961) "Mechanism of fatty acid assimilation in adipose tissue. Biochem. Biophys Acta 46,495-504.
27. Martin, R. (1964) "Metabolism of isolated fat cell; I. effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis" J. Biol. Chem. 239,375-380.
28. Angel, A. (1969) "Adipose cell diglyceride (DG); a reactive and segregated pool of newly synthesized lipid" Clin. Res. 17,377.
29. Angel, A. (1979) "Studies on the comportmentation of lipid in adipose cells; I: subcelular distribution, composition, and transport of newly synthesized lipid: liposomes". J. Lipid Res. 11,420-32.
30. Winand, J.; J. Furnille, J.C. Woden y J. Christophe. (1971) "Spectrum of fatty acids synthesized in situ and metabolic heterogeneity of free fatty acids and glicerides within isolated rat adipocitos". Biophys Biochim. Acta. 239,142-153.
31. Stein, O.; R.O. Scow y Y. Stein. (1970) FFA-3H Uptake by perfused adipose tissue; electrón microscopic autoradiografic study". Amer. J. Physiol. 219,510-518.
32. Khoo, J.C.; L. Jarett; S.E. Mayer y D. Steinberg. (1972). "Subcellular distribution of and epinephrine-induce change in hormone-sensitive lipase, phophorylase, and phosphorylase kinase in rat adipocytes. J. Biol. Chem. 247,4812-4818.
33. Zinder, O.; E. Eisemberg y B. Shapiro. (1973) "Compartmentation of glycerides in adipose tissue cells; I. the mechanism of free fatty acid release". J. Biol. Chem. 248,7673-7676.

34. Strand, O.; M. Vaughan y D. Steinber. (1964) "Rat adipose tissue lipases; hormone-sensitive lipase activity against triglycerides compared with activity against lower glycerides" J. Lipid Res. 5,554-562.
35. Robinson, G.A.; R.W. Butcher y E.W. Sutherland. (1971). "Lipolysis in adipose tissue" Ciclic AMP. Academic Press Inc. New York, p. 385-316.
36. Khoo, J.C.; A.A. Aquino y D. Steinberg. (1974) "The Mechanism of activation of hormone-sensitive lipase in human adipose tissue". J. Clin. Invest. 53,1124-1131.
37. Siddle, K. y C.N. Halis. (1975) Hormonal control of adipose tissue lipolysis. Prac. Nutr. Soc. 34,233-239.
38. "Fat Cell size and lipid metabolism". Nutr. Rev. 29, 188-190. (1971)
39. Butcher, R.W.; R.W. Ho, H.C. Meng y E.W. Sutherland. (1965) "Adenosine 3'-5'- monofosphate in biological materials, II. The measurement of adenosine 3'-5'- monophosphate in tissue and the role of the cyclic nucleotide in lipolytic response of rat to epinephrine" J. Biol. Chem. 240,4515-4523.
40. Butcher, R.W.; C.E. Baird y E.W. Sutherland. (1968) "Effects of lipolytic and antilipolytic substances on adenosine 3'-5'-monophosphate levels in isolated fat cells". J. Biol. Chem. 243,1705-1712.
41. Rizack, M.A. (1964). "Activation of an epinephrine-sensitive lipolytic activity from adipose tissue by adenosine 3',5' phosphate". J. Biol. Chem. 239,392-395.
42. Rizack, M.A. (1965) "Mechanism of hormonal control of adipose tissue lipase". Ann. N.Y. Acad. Scie. 131, 250-253.
43. Vaughan, M.; y D. Steinberg. (1963) "Effect of hormones on lipolysis and esterification of free fatty acids during incubation of adipose tissue in vitro". J. Lipid Res. 4,193-204.
44. Sutherland, W.W. y T.W. Rall. (1958) "Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles". J. Biol. Chem. 232,1077-



45. Butcher, R.W. y E.W. Sutherland. (1963) "Adenosine 3'5' phosphate in biological materiales; I. purification and properties of cyclic 3'-5'- phosphonucleotide phosphodiesterase and use of this enzyme to characterized adenosine 3'-5'- phosphate in human cell'. J. Biol. Chem. 237,1244-1250.
46. Bellet, S.; A. Kershbaum y J. Aspe. (1965) "The effect of caffeine on free fatty acids". Arch. Intern. Med. 116,750-752.
47. Bellet, S. y E.M. Fink. (1968) "Response of free fatty acids to coffee and caffeine". Metabolism. 17,702-707.
48. Cooper, B.; J.S. Partilla y R.I. Gregerman. (1975) "Adenylate cyclase of human fat cells; expression of epinephrine-sensitive activation revealed by 5 guanyldiimidodiphosphate". J. Clin. Invest. 56,1350-1353.
49. Knittle, J.L. y J. Hirsh. (1968) "Effect of early nutrition on the development of rat epididymal fat pads; cellularity and metabolism". J. Clin. Invest. 47, 2091.
50. Hirsch, M.K. y W.P. Han. (1969) "Cellularity of rat adipose tissue; effects of growth starvation, and obesity". J. Lipid Res. 10,77-82.
51. Oscai, L.B.; C.N. Spirakis, C.N. Wolff y R.J. Beck (1972) "Effects of exercise and food restriction on adipose tissue cellularity". J. Lipid Res. 13,588-592.
52. Bertrand, H.A. y E.J. Masoro. (1977) "Post-Weaning food restriction reduces adipose cellularity". Nature, 266, 62-63.
53. Salans, L.B.; J.L. Knittle y J. Hirsch. (1968) "The role of adipose cell size and adipose insulin sensitivity in the carbohydrate intolerance of human obesity". J. Clin. Invest. 47,153-165.
54. Pearson, M.F.; R.B. Goldrick y N.H. Hidge. (1973). "Dependence of rates of lipolysis, esterification and free fatty acid release in isolated fat cell on age, cell size, and nutritional state". J. Lipid Res. 14,319-326.
55. Gorman, R.R.; H.M. Tepperman y J. Tepperman. (1972) "Effects of starvation, refeeding and fat feeding on adipocyte ghost adenyl cyclase activity". J. Lipid Res. 13,276-280.

56. Gorman, R.R.; H.M. Tepperman y J. Tepperman. (1973). "Epinephrine binding and the selective restoration of adenylate cyclase activity in fat-fed rats. J. Lipid Res. 14,279-285.
57. Livingston, J.N.; P. Cuatrecasas y D.H. Lockwood. (1974). "Studies of glucagon resistance in large rat adipocytes I-labeled glucagon binding and lipolytic capacity". J. Lipid Res., 15,26-32.
58. De Santis, R.A.; T. Gorenstein, J.N. Livingston y D.H. Lockwood. (1974). "Role of phosphodiesterase in glucagon resistance of large adipocytes". J. Lipid Res. 15,33-38.
59. Manganiello, V. y M. Vaughan. (1972). "Selective loss of adipose cell responsiveness to glucagon with growth in rat". J. Lipid Res. 13,12-10.
60. Cooper, B. y R.I. Gregerman. (1976) "Hormone-sensitive fat cell adenylate cyclase in the rat, influences of growth, cell size and aging". J. Clin. Invest. 57, 161-168.
61. Cooper, B.; F. Weinblatt y R.I. Gregerman. (1977). "Enhanced activity of hormone-sensitive adenylate cyclase during dietary restriction in rat; dependence on Age and relation to cell size". J. Clin. Invest. 59, 467-474.
62. Patil, V.S. y A.E. Hansen. (1962). "Effect of diets with and without at fat low and high caloric level on fatty acids in blood cell and plasma of dogs". J. Nutr. 78,167-172.
63. Weise, H.F., A.E. E. Hansen y E. Coon. (1962). "Influence of high and low caloric intakes on fat deficiency of dogs". J. Nutr. 76,73-81.
64. Guidry, M.A. y J. Méndez. (1965) "Essential fatty acids in serum lipids of young male rural guatemalans and urban North americans". Circulation, 32,106-113.
65. Manna, L. y S.M. Hauge. (1973). "A possible relationship of vitamin B13 to orotic acid". J. Biol. Chem. 202, 91-96.
66. Hegsted, M.D.; R.C. Mills, C.A. Elvehjem y B.C. Hart. (1941). "Choline in the nutrition of chicks". J. Biol. Chem. 138,459-465.

67. Itaya, K. (1977). "A more sensitive and stable calorimetric determination of free fatty acids in blood." J. Lipid Res. 18,663-665,
68. Floch, J.; M. Lees y G.H.S. Stanley. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226,497-509.
69. Metcalfe, L.D.; A.A. Schinutz y J.R. Pelka. (1966). "Rapid preparation of fatty acid esteres from lipids for gas chromatographic analysis". Anal. Chem. 38, 514-515.
70. Ko, H. y M.E. Royer. (1974). "A gas-liquid chromatographic assay for plasma free fatty acids". J. Chromatografic, 88,253-263.
71. Herbert, A.S. (1968) "Nomenclature of lipids". En: Herbert, A.S. ed. Handbook of biochemistry; Selected data for molecular biology. The Chemical Rubber Co. 1968. p. 428.
72. Widdowson, E.M. (1975). "The relation of the nutrition of the young animals to its subsecuent growth, fertility and lactation". En: Conalty, M.L. ed. Husbandry of Laboratory Animals. Academic Press London and N.Y. p. 147-159.
73. Mayes, P. (1975). "Metabolism lipid". En: Harper, H.A. ed. Review of physiological Chemistry. 15th ed. Los Altos, California Lange Medical Publications. p. 279.
74. Du, J.T: y F.A. Kruger. (1972) "Effect of essential fatty acids on the fatty acid synthesis in epididymal fat cells of the rat". J. Nutr. 102,1033-1038.
75. Fukazawa T., O.S. Privett y Y. Takahashi. (1971). "Effect of EFA deficiency on lipid transport from liver". Lipids, 6,388-393.
76. Basso, L.V. y R.T. Havel. (1970). "Hepatic metabolism of free fatty acids in normal and diabetic dogs". J. Clin. Invest. 49,537-547.
77. Hems, D.A. (1975). "Control of hepatic glyceride synthesis". Proc. Nutr. Soc. 34,225-231.

ANEXOS

Cuadro 1

Efecto de la ingesta crónica de dieta conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 16:0 en los ácidos grasos libres del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas (porcentaje del total de ácidos grasos)

Trat. Ratas	Ratas bien nutridas								Ratas desnutridas							
	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
1	26.80	26.78	27.52	29.42	27.05	28.56	26.91	22.92	29.28	34.51	36.27	30.36	29.55	25.82	29.59	28.55
2	24.81	26.15	26.52	26.85	27.52	25.47	25.63	25.64	30.02	30.53	27.96	29.78	23.75	30.20	21.84	30.50
3	28.43	26.90	26.50	25.47	23.37	25.76	26.32	28.71	31.38	30.73	28.47	29.69	27.59	26.56	28.57	26.53
4	27.35	29.32	26.98	26.47	27.14	25.90	24.80	25.02	32.02	28.85	29.13	29.30	19.22	29.27	24.84	29.13
5	27.85	34.15	26.95	28.05	-	27.27	26.40	27.98	33.61	31.64	29.74	31.65	27.01	27.66	24.82	28.60
6	-	26.50	27.80	27.83	-	-	25.12	26.50	-	31.36	27.42	29.56	23.93	27.92	25.07	27.39
$\bar{x}$	27.05 <sup>a</sup>	28.37 <sup>a</sup>	27.05 <sup>a</sup>	27.35 <sup>a</sup>	26.27 <sup>a</sup>	26.59 <sup>a</sup>	25.86 <sup>a</sup>	26.13 <sup>a</sup>	31.26 <sup>b</sup>	31.27 <sup>b</sup>	29.83 <sup>bc</sup>	30.06 <sup>bc</sup>	25.18 <sup>d</sup>	27.91 <sup>ce</sup>	25.79 <sup>de</sup>	28.45 <sup>ce</sup>
D.E.	1.39	3.04	0.53	1.38	1.97	1.30	0.82	2.10	1.70	1.86	3.25	0.85	3.67	1.63	2.83	1.38

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes

DE = desviación estándar

- = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

#### Tratamientos:

H = Ingesta crónica de grasa hidrogenada

HC = Ingesta igual a H; muestra post-cafeína

H1 = Ingesta crónica de grasa hidrogenada y reciente de aceite de maíz.

H1C = Ingesta igual a H1; muestra post-cafeína

M = Ingesta crónica de aceite de maíz

MC = Ingesta igual a M; muestra post-cafeína

M1 = Ingesta crónica de aceite de maíz y reciente de grasa hidrogenada

M1C = Ingesta igual a M1; muestra post-cafeína

Cuadro 2

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 16:1n7 en los ácidos grasos libres del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.  
(porcentaje del total de ácidos grasos)

Ratas bien nutridas									Ratas desnutridas							
Trat. Ratas	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
1	9.24	11.53	8.96	10.43	3.14	2.66	4.49	3.04	10.73	10.45	7.23	10.00	3.88	3.66	6.26	4.94
2	11.65	9.71	9.89	5.25	3.02	2.90	3.09	3.56	9.78	10.23	5.10	8.29	5.13	4.72	4.50	4.68
3	10.37	11.46	9.95	7.36	2.60	3.09	4.06	5.66	7.18	8.90	4.50	8.80	5.41	3.12	5.00	5.28
4	9.64	8.75	10.49	9.73	2.79	3.02	3.89	5.68	7.02	7.57	7.43	8.48	5.14	3.69	4.65	4.16
5	12.01	10.46	6.82	10.47	-	4.66	5.27	4.58	7.07	8.81	5.38	8.22	3.43	3.45	4.67	4.75
6	-	13.20	12.35	12.18	-	-	3.15	2.75	-	8.93	6.07	8.57	3.39	5.03	5.17	4.68
$\bar{x}$	10.58 <sup>a</sup>	10.85 <sup>a</sup>	9.74 <sup>a</sup>	9.24 <sup>a</sup>	2.89 <sup>b</sup>	3.27 <sup>b</sup>	3.99 <sup>b</sup>	4.21 <sup>b</sup>	8.36 <sup>c</sup>	9.15 <sup>c</sup>	5.95 <sup>d</sup>	8.72 <sup>c</sup>	4.40 <sup>e</sup>	3.95 <sup>e</sup>	5.04 <sup>ed</sup>	4.75 <sup>e</sup>
D.E.	1.21	1.56	1.82	2.50	0.24	0.80	0.83	1.29	1.77	1.06	1.18	0.66	0.93	0.76	0.65	0.37

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes

DE = Desviación estándar

- = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamientos: Ver clave en el Cuadro 1



Cuadro 3

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:0 en los ácidos grasos libres del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.  
(porcentaje del total de ácidos grasos)

Trat. Ratas	Ratas bien nutridas								Ratas desnutridas							
	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
1	3.73	2.59	3.77	3.35	4.88	4.33	2.99	3.42	3.35	4.31	3.93	4.19	5.55	4.61	4.60	5.52
2	5.58	5.56	3.53	3.63	6.61	4.45	4.05	3.77	4.61	4.04	5.92	4.90	4.97	5.28	4.30	5.58
3	3.11	5.74	3.79	3.82	5.27	4.19	3.89	3.85	4.90	6.11	5.93	4.21	4.73	4.42	4.06	5.74
4	5.58	3.16	3.02	4.13	3.80	4.44	3.28	3.17	5.08	5.14	3.62	4.30	3.17	5.45	3.95	4.87
5	2.83	2.27	3.84	3.23	-	3.95	4.20	4.01	5.47	5.38	5.38	4.88	5.50	4.96	4.17	5.00
6	-	3.09	3.49	3.64	-	-	3.80	3.68	-	5.97	5.53	4.27	5.00	4.78	2.61	4.60
$\bar{x}$	<sup>a</sup> 4.17	<sup>a</sup> 3.74	<sup>a</sup> 3.57	<sup>a</sup> 3.63	<sup>a</sup> 5.14	<sup>a</sup> 4.27	<sup>a</sup> 3.70	<sup>a</sup> 3.65	<sup>b</sup> 4.68	<sup>b</sup> 5.16	<sup>b</sup> 5.05	<sup>b</sup> 4.46	<sup>b</sup> 4.82	<sup>b</sup> 4.92	<sup>b</sup> 3.95	<sup>b</sup> 5.22
D.E.	1.33	1.52	0.31	0.32	1.16	0.21	0.47	0.31	0.81	0.85	1.02	0.34	0.87	0.39	0.69	0.46

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes  
DE = Desviación estándar  
- = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1



Cuadro 4

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:1n9 en los ácidos grasos libres del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.  
(porcentaje del total de ácidos grasos)

Trat. Ratas	Ratas bien nutridas								Ratas desnutridas							
	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
1	51.29	49.93	45.96	43.20	23.20	24.46	27.80	29.37	49.32	45.83	34.27	38.69	24.38	25.59	44.96	31.73
2	45.88	44.08	45.20	51.75	23.60	24.90	29.30	27.46	50.61	47.52	35.81	44.10	23.59	22.32	48.70	35.64
3	51.02	43.52	44.24	46.57	24.97	27.88	29.71	25.78	51.37	49.80	35.96	40.74	23.32	24.81	34.50	30.76
4	45.67	49.22	45.97	45.80	23.86	25.37	27.53	28.97	50.50	54.08	30.88	42.99	26.22	23.06	45.45	32.75
5	48.80	45.44	47.38	47.87	-	24.25	26.03	27.59	48.70	46.79	37.65	37.74	26.19	24.80	46.08	31.85
6	-	49.45	45.09	44.07	-	-	28.96	28.07	-	48.30	35.09	41.54	25.31	24.14	53.02	34.44
$\bar{x}$	48.53 <sup>a</sup>	46.94 <sup>ab</sup>	45.64 <sup>b</sup>	46.54 <sup>ab</sup>	23.91 <sup>c</sup>	25.37 <sup>c</sup>	28.22 <sup>d</sup>	27.87 <sup>d</sup>	50.10 <sup>e</sup>	48.72 <sup>e</sup>	34.94 <sup>f</sup>	40.97 <sup>g</sup>	24.84 <sup>h</sup>	24.12 <sup>h</sup>	45.45 <sup>i</sup>	32.86 <sup>f</sup>
D.E.	2.70	2.92	1.07	3.06	0.76	1.47	1.37	1.27	1.07	2.95	2.29	2.45	1.27	1.22	6.14	1.84

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes

DE = Desviación estándar

- = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1

Cuadro 5

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:2n6 en los ácidos grasos libres del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas. (porcentaje del total de ácidos grasos)

Ratas bien nutridas									Ratas desnutridas							
Trat. Ratas	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
1	8.94	7.18	13.97	13.60	41.72	40.25	38.01	41.25	7.33	4.89	19.30	16.76	36.64	42.32	14.58	29.25
2	12.97	14.39	13.80	12.58	39.24	42.28	37.92	39.55	4.98	4.46	25.50	12.93	43.45	37.49	20.66	23.60
3	7.06	12.37	15.43	16.79	43.79	39.08	36.02	36.00	5.17	5.26	25.12	16.56	38.92	41.09	27.87	31.68
4	11.78	12.32	13.53	13.86	42.36	41.27	40.49	37.16	5.36	4.35	29.46	14.93	45.70	38.53	14.77	28.74
5	8.21	6.03	14.50	11.00	-	39.55	38.10	35.95	5.51	7.39	21.85	17.61	38.00	39.13	20.24	29.80
6	-	7.67	11.25	12.27	-	-	38.97	39.00	-	5.42	25.89	15.76	42.37	38.14	13.85	28.88
$\bar{x}$	<sup>a</sup> 9.79	<sup>a</sup> 9.99	<sup>b</sup> 13.75	<sup>b</sup> 13.35	<sup>c</sup> 41.78	<sup>cd</sup> 40.49	<sup>d</sup> 38.25	<sup>d</sup> 38.15	<sup>e</sup> 5.67	<sup>e</sup> 5.30	<sup>f</sup> 24.52	<sup>g</sup> 15.76	<sup>h</sup> 40.85	<sup>h</sup> 39.45	<sup>g</sup> 18.66	<sup>i</sup> 28.66
D.E.	2.49	3.45	1.39	1.97	1.90	1.30	1.46	2.13	0.95	1.11	3.52	1.66	3.53	1.87	5.41	2.70

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes  
 DE = Desviación estándar  
 - = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1

Cuadro 6

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 16:0 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.  
(porcentaje del total de ácidos grasos)

Ratas bien nutridas									Ratas desnutridas							
Trat. Ratas	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
1	21.86	18.13	18.88	20.17	19.83	18.31	19.58	20.60	23.03	21.76	19.31	20.03	18.18	21.03	23.26	19.06
2	23.22	25.23	18.67	20.21	23.54	20.37	21.19	17.81	21.37	20.87	19.13	20.70	18.72	19.78	23.57	18.71
3	20.39	21.20	20.15	16.86	19.45	18.36	20.14	19.40	22.22	20.49	20.10	23.06	17.72	20.46	18.86	18.46
4	22.74	24.03	19.60	20.01	20.23	17.48	22.51	16.78	19.53	20.26	20.25	22.27	19.33	18.82	19.76	17.67
5	20.08	21.42	20.25	19.29	-	19.20	20.41	19.05	19.58	20.50	20.09	20.82	19.95	19.86	-	19.10
6	-	25.27	18.99	19.06	-	-	19.44	16.97	-	21.34	18.00	17.50	18.76	18.46	-	19.95
$\bar{x}$	ac 21.66	a 22.55	bd 19.42	bd 19.27	ab 20.76	bd 18.74	cb 20.55	d 18.44	e 21.15	ef 20.87	fg 19.48	ef 20.73	g 18.78	fg 19.74	e 21.36	g 18.83
D.E.	1.39	2.81	0.68	1.27	1.88	1.09	1.15	1.50	1.57	0.58	0.86	1.94	0.80	0.97	2.40	0.76

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes  
DE = Desviación estándar  
- = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1

Cuadro 7

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 16:1n7 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.  
(porcentaje del total de ácidos grasos)

Ratas bien nutridas									Ratas desnutridas							
Trat. Ratas	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
1	3.90	5.96	2.10	3.40	0.48	1.13	1.22	2.00	8.01	6.88	2.20	2.18	1.42	1.27	3.53	2.68
2	4.64	4.75	1.95	1.60	0.97	1.50	3.52	1.65	4.75	6.48	1.79	2.87	1.66	2.11	3.76	3.70
3	4.89	5.14	3.06	2.50	1.22	0.80	1.32	1.22	6.46	7.52	2.10	2.70	1.55	1.68	2.70	3.47
4	3.99	3.93	3.08	2.86	0.98	0.82	2.49	1.88	5.16	6.38	2.60	3.64	1.54	1.61	3.35	2.98
5	4.51	4.15	2.37	4.23	-	0.85	1.99	2.10	4.76	5.71	2.31	3.07	2.49	1.54	-	2.58
6	-	4.27	2.23	3.01	-	-	2.65	1.73	-	5.93	2.47	3.64	1.77	1.48	-	2.98
$\bar{x}$	4.39 <sup>a</sup>	4.70 <sup>a</sup>	2.47 <sup>bd</sup>	2.93 <sup>b</sup>	0.91 <sup>c</sup>	1.02 <sup>c</sup>	2.20 <sup>d</sup>	1.76 <sup>d</sup>	5.83 <sup>e</sup>	6.48 <sup>e</sup>	2.25 <sup>f</sup>	3.02 <sup>g</sup>	1.74 <sup>f</sup>	1.62 <sup>f</sup>	3.33 <sup>g</sup>	3.07 <sup>g</sup>
D.E.	0.43	0.76	0.49	0.88	0.31	0.30	0.87	0.31	1.41	0.66	0.29	0.57	0.39	0.28	0.46	0.44

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes

DE = Desviación estándar

- = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1



Cuadro 8

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:0 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas. (porcentaje del total de ácidos grasos)

Ratas bien nutridas									Ratas desnutridas							
Trat. Ratas	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
1	5.29	6.15	8.69	6.96	10.11	10.50	7.18	5.86	5.25	7.27	11.14	11.38	10.39	9.67	4.24	5.67
2	5.19	4.91	9.80	9.68	11.57	8.70	7.29	8.26	8.04	7.34	9.98	8.64	7.87	9.62	4.58	5.22
3	4.11	8.43	6.98	9.63	7.50	12.26	7.45	9.39	3.41	6.94	9.27	7.63	9.17	10.20	5.16	6.81
4	4.55	6.97	7.36	11.44	12.17	11.18	8.32	8.25	7.01	7.40	9.75	8.91	9.80	9.99	5.16	6.71
5	4.52	7.03	7.00	7.91	-	9.52	6.56	7.79	7.58	7.53	10.48	10.64	10.01	9.03	-	5.64
6	-	7.98	9.15	9.69	-	-	7.24	6.73	-	7.43	10.92	10.25	8.94	10.77	-	5.33
$\bar{x}$	4.73 <sup>a</sup>	6.91 <sup>b</sup>	8.16 <sup>bc</sup>	9.22 <sup>cd</sup>	10.34 <sup>d</sup>	10.43 <sup>d</sup>	7.34 <sup>b</sup>	7.71 <sup>b</sup>	6.46 <sup>eg</sup>	7.32 <sup>e</sup>	10.26 <sup>f</sup>	9.58 <sup>f</sup>	9.36 <sup>f</sup>	9.88 <sup>f</sup>	4.79 <sup>g</sup>	5.90 <sup>g</sup>
D.E.	0.50	1.27	1.21	1.57	2.08	1.39	0.57	1.25	1.83	0.21	0.72	1.41	0.91	0.59	0.46	0.69

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes  
 DE = Desviación estándar  
 - = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1

Cuadro 9

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:1n9 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.  
(porcentaje del total de ácidos grasos)

Ratas bien nutridas									Ratas desnutridas							
Trat. Ratas	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
1	47.70	45.52	24.80	29.95	12.00	12.42	17.30	22.47	39.99	35.16	15.31	19.56	11.14	11.66	44.91	24.91
2	45.22	47.21	25.45	25.01	10.71	14.66	20.99	15.81	40.30	34.73	15.04	20.11	15.13	11.82	42.81	24.23
3	40.71	43.55	25.30	21.51	17.82	9.81	21.42	15.83	49.83	36.46	17.31	21.81	10.90	11.75	28.28	27.17
4	46.34	43.53	24.38	27.33	11.78	14.80	22.32	14.00	41.26	37.62	18.46	24.20	12.38	11.26	38.79	22.38
5	44.33	41.14	29.88	31.11	-	10.89	18.37	21.00	41.91	40.11	17.74	19.75	14.01	11.76	-	24.67
6	-	44.66	25.01	27.34	-	-	20.10	18.61	-	40.05	16.69	18.77	13.32	11.02	-	25.26
$\bar{x}$	44.86 <sup>a</sup>	44.27 <sup>a</sup>	25.80 <sup>b</sup>	27.04 <sup>b</sup>	13.08 <sup>c</sup>	12.52 <sup>c</sup>	20.08 <sup>d</sup>	17.95 <sup>d</sup>	42.66 <sup>e</sup>	37.36 <sup>f</sup>	16.76 <sup>g</sup>	20.70 <sup>h</sup>	12.81 <sup>i</sup>	11.55 <sup>i</sup>	38.70 <sup>f</sup>	24.77 <sup>j</sup>
D.E.	2.64	2.06	2.03	3.46	3.21	2.22	1.91	3.31	4.08	2.34	1.36	1.99	1.65	0.33	7.40	1.55

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes  
 DE = Desviación estándar  
 - = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1

Cuadro 10

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 18:2n6 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas. (porcentaje del total de ácidos grasos)

Ratas bien nutridas									Ratas desnutridas							
Trat. Ratas	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
1	10.37	14.70	16.23	15.01	28.06	23.97	24.25	26.73	14.41	17.36	30.38	24.96	33.83	33.76	14.40	24.41
2	11.22	11.32	16.78	14.70	25.38	24.88	24.86	21.91	16.83	17.12	32.32	29.31	35.89	30.09	14.18	24.42
3	24.58	12.52	19.66	17.28	28.35	20.91	22.01	20.22	13.35	16.65	31.90	26.18	32.58	29.25	31.09	22.07
4	9.83	9.99	13.06	18.30	24.56	26.58	22.18	22.15	19.10	19.33	33.10	24.63	34.04	32.42	19.06	24.35
5	16.41	12.05	18.36	16.94	-	25.40	25.59	21.98	17.43	16.65	30.93	24.79	33.38	30.81	-	27.19
6	-	9.48	15.98	12.56	-	-	25.87	24.88	-	17.97	33.19	26.30	34.31	33.81	-	26.95
$\bar{x}$	ab 14.48	a 11.68	b 16.68	b 15.80	c 26.59	c 24.35	c 24.13	c 22.98	d 16.23	d 17.51	e 31.97	f 26.03	e 34.01	e 31.69	d 19.68	f 24.90
D.E.	6.22	1.89	2.26	2.10	1.90	2.14	1.67	2.37	2.33	1.02	1.14	1.76	1.11	1.93	7.93	1.91

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes

DE = Desviación estándar

- = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1

Cuadro 11

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 20:3n9 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.  
(porcentaje del total de ácidos grasos)

Ratas bien nutridas									Ratas desnutridas							
Trat. Ratas	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	MC
1	1.26	1.45	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.32	2.41	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	0.98	0.70	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.77	2.09	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	0.71	0.98	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.41	1.70	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	0.87	1.84	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.54	1.89	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	1.34	1.83	ND	ND	-	ND	ND	ND	1.93	1.94	ND	ND	ND	ND	-	ND
6	-	1.00	ND	ND	-	-	ND	ND	-	1.34	ND	ND	ND	ND	-	ND
$\bar{x}$	1.03 <sup>a</sup>	1.30 <sup>a</sup>							1.59 <sup>b</sup>	1.90 <sup>b</sup>						
D.E.	0.26	0.48							0.72	0.36						

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes

DE = Desviación estándar

- = muestra perdida

ND = no detectable

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1



Cuadro 12

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre los valores de 20:4n6 en los ácidos grasos totales del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.  
(porcentaje del total de ácidos grasos)

Ratas bien nutridas									Ratas desnutridas							
Trat. Ratas	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
1	6.64	7.73	27.37	22.90	28.82	32.36	30.05	21.41	5.17	8.03	21.39	21.30	25.04	22.61	8.79	22.81
2	7.89	4.43	26.06	28.01	27.72	28.79	20.02	33.57	5.59	8.73	21.25	17.93	20.33	25.90	9.96	23.42
3	4.59	5.10	24.17	30.52	27.08	37.26	27.23	33.33	1.90	8.22	19.00	14.58	26.97	26.18	13.44	21.47
4	9.58	8.97	31.69	19.94	29.70	28.82	21.41	36.33	5.85	6.07	15.84	14.52	22.60	25.27	12.96	25.49
5	6.95	11.15	21.00	19.08	-	33.22	26.69	27.19	5.60	5.95	17.95	20.21	20.17	26.28	-	20.42
6	-	5.96	27.64	26.52	-	-	23.86	30.84	-	5.80	18.45	22.01	22.34	24.47	-	20.78
$\bar{x}$	a 7.13	a 7.22	b 26.32	b 24.50	b 28.33	b 32.06	b 24.88	b 30.45	c 4.82	c 7.13	d 18.98	d 18.43	d 22.91	d 25.12	e 11.29	d 22.40
D.E.	1.82	2.56	3.60	4.59	1.16	3.53	3.80	5.39	1.65	1.33	2.11	3.30	2.67	1.40	2.27	1.91

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes  
DE = Desviación estándar  
- = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1

Cuadro 13

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos sobre los valores de 16:0 en los ácidos grasos totales del tejido adiposo de ratas bien nutridas y desnutridas.

(porcentaje del total de ácidos grasos)

Trat. Ratas	Bien nutridas				Desnutridas			
	H	H1	M	M1	H	H1	M	M1
1	23.48	21.85	15.73	18.14	23.37	22.28	16.28	16.94
2	25.42	19.55	17.33	16.40	22.68	21.60	15.98	17.01
3	23.80	20.97	16.09	15.49	22.63	21.11	15.86	17.11
4	25.46	20.81	17.03	17.74	24.40	22.98	15.11	15.94
5	21.70	21.35	15.99	16.71	22.23	23.34	17.06	16.79
6	21.99	23.55	15.91	16.18	22.74	21.92	16.13	16.18
7	23.92	22.87	17.41	16.88	21.60	23.33	16.03	15.67
8	24.19	20.27	16.89	16.93	23.56	22.84	18.09	16.95
9	25.48	22.11	15.49	16.94	22.31	23.59	17.92	18.01
10	22.67	22.77	17.39	17.22	22.29	23.96	17.50	16.93
11	22.09	23.19	17.12	-	22.16	23.84	15.60	15.22
12	23.11	-	17.65	-	22.50	22.04	17.21	15.74
$\bar{x}$	a 23.61	b 21.75	c 16.67	c 16.87	d 22.70	d 22.74	e 16.56	e 16.54
D.E.	1.36	1.28	0.77	0.71	0.75	0.98	0.96	0.79

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes

DE = desviación estándar

- = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1.

Cuadro 14

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos sobre los valores de 16:1n7 en los ácidos grasos totales del tejido adiposo de ratas bien nutridas y desnutridas.

(porcentaje del total de ácidos grasos)

Bien nutridas					Desnutridas			
Trat. Ratas	H	H1	M	M1	H	H1	M	M1
1	8.62	8.81	2.32	2.51	8.47	8.13	2.59	3.09
2	9.28	10.09	2.72	3.85	8.18	6.03	2.28	2.30
3	9.26	9.80	5.11	3.40	7.47	7.23	2.69	3.28
4	8.25	8.47	1.99	4.11	9.95	9.45	2.32	2.99
5	9.58	7.17	2.26	2.36	6.68	7.81	4.11	2.96
6	8.89	8.46	2.78	1.15	7.42	7.75	2.41	3.01
7	10.14	7.15	2.67	4.42	9.10	9.22	3.04	2.75
8	8.59	10.03	3.17	3.69	9.77	7.32	2.39	2.58
9	9.01	8.54	2.55	2.81	8.60	8.86	2.18	1.44
10	7.91	8.93	3.73	3.39	6.46	9.42	5.00	3.41
11	9.65	10.23	4.23	-	5.65	10.09	2.53	2.12
12	9.05	-	1.90	-	6.75	7.25	2.80	3.21
$\bar{x}$	a 9.02	a 8.89	b 2.76	c 3.17	d 7.88	d 8.21	e 2.86	e 2.76
D.E.	0.62	0.97	0.71	0.98	1.36	1.20	0.85	0.59

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes  
 DE = Desviación estándar  
 - = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1

Cuadro 15

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos. sobre los valores de 18:1 en los ácidos grasos totales del tejido adiposo de ratas bien nutridas y desnutridas.

(porcentaje del total de ácidos grasos)

Bien nutridas					Desnutridas			
Trat. Ratas	H	H1	M	M1	H	H1	M	M1
1	1.32	1.47	1.68	1.33	1.99	2.08	2.25	2.17
2	1.24	1.25	1.50	1.57	2.14	2.65	2.31	2.39
3	1.12	1.41	2.70	1.70	2.32	2.21	1.97	2.26
4	1.33	1.32	1.39	2.02	1.69	2.01	2.17	2.20
5	1.42	1.51	2.34	1.12	2.54	2.02	2.34	2.20
6	1.76	1.25	0.94	1.39	2.29	2.30	2.39	2.40
7	0.89	1.47	2.11	1.41	1.86	2.79	2.67	2.12
8	1.21	1.22	1.60	1.61	1.94	2.39	2.42	2.83
9	0.96	1.37	1.50	0.95	1.99	2.03	2.07	2.97
10	1.46	1.30	1.77	1.69	2.63	1.93	2.28	2.40
11	1.70	1.49	1.52	-	2.92	1.99	2.33	2.59
12	1.94	-	1.09	-	2.47	2.29	2.17	2.08
$\bar{x}$	a	a	a	a	b	b	b	b
D.E.	0.32	0.11	0.50	0.31	0.36	0.27	0.20	0.28

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes  
 DE = Desviación estándar  
 - = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el cuadro 1.



Cuadro 16

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos, sobre los valores de 18:1n9 en los ácidos grasos totales del tejido adiposo de ratas bien nutridas y desnutridas.

(porcentaje del total de ácidos grasos)

Bien nutridas					Desnutridas			
Trat. Ratas	H	H1	M	M1	H	H1	M	M1
1	60.77	59.94	29.23	32.79	60.42	58.55	31.50	30.90
2	58.19	58.73	29.20	30.48	61.30	58.82	31.20	32.83
3	59.85	60.29	29.31	30.62	61.87	60.58	30.77	31.85
4	59.12	59.21	29.67	30.45	57.93	56.76	31.36	31.84
5	61.30	61.90	28.88	29.17	62.51	60.06	29.98	32.63
6	60.26	60.22	29.16	30.40	62.23	59.70	31.44	32.04
7	58.52	61.75	29.44	29.27	60.74	58.22	30.81	31.87
8	59.49	59.79	29.70	31.34	58.56	59.71	31.03	33.45
9	59.29	60.59	28.44	31.13	62.29	58.26	31.35	35.37
10	61.83	59.47	28.81	30.21	62.91	57.47	29.42	32.17
11	59.34	58.94	29.26	-	64.27	56.87	31.23	34.13
12	59.55	-	29.46	-	63.19	59.89	30.83	31.61
$\bar{x}$	a 59.79	a 60.07	b 29.30	c 30.60	d 61.51	e 58.74	f 30.91	g 32.56
D.E.	1.08	1.03	0.38	1.05	1.86	1.27	0.63	1.24

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes  
 DE = Desviación estándar  
 - = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1

Cuadro 17

Efecto de la ingesta crónica de dietas conteniendo grasa hidrogenada (H) o aceite de maíz (M), del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos sobre los valores de 18:2n6 en los ácidos grasos totales del tejido adiposo de ratas bien nutridas y desnutridas.

(porcentaje del total de ácidos grasos)

Bien nutridas					Desnutridas			
Trat. Ratas	H	H1	M	M1	H	H1	M	M1
1	5.74	7.93	50.70	44.81	5.74	9.16	46.81	46.17
2	5.87	8.70	46.63	47.18	5.72	10.91	48.23	44.81
3	5.97	7.53	51.32	48.88	5.72	9.62	47.76	44.75
4	5.84	9.19	45.62	44.80	6.06	6.45	48.69	46.29
5	6.01	7.07	49.33	50.25	6.05	6.99	45.95	44.64
6	6.80	6.52	48.62	50.38	5.30	8.34	47.09	45.54
7	6.19	6.89	47.66	45.93	6.59	7.15	46.92	46.94
8	6.52	8.50	48.31	45.86	6.16	7.74	47.64	43.46
9	5.26	5.73	49.20	47.73	4.81	7.26	47.80	41.50
10	6.09	7.54	48.00	46.64	5.71	7.21	45.15	43.80
11	5.48	7.15	47.92	-	4.83	6.74	47.88	45.38
12	6.38	-	47.00	-	5.09	8.53	41.25	46.80
$\bar{x}$	a 60.01	b 7.52	c 48.36	d 47.24	e 5.67	f 8.01	g 46.75	h 45.01
D.E.	0.42	1.01	1.63	2.02	0.57	1.34	2.00	1.56

$\bar{x}$  = promedio de los porcentajes

DE = Desviación estándar

- = muestra perdida

Los análisis de significación estadística de las diferencias se refieren únicamente a los grupos de tratamiento dentro de cada estado nutricional y no entre estados nutricionales. Los grupos de tratamiento cuyos promedios tienen alguna letra en común, no difieren entre sí.

Tratamiento: Ver clave en el Cuadro 1

Cuadro 18

Efecto del estado nutricional sobre la composición de ácidos grasos libres del plasma, totales del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas alimentadas 16 semanas con la dieta H.

(promedio del porcentaje del total de ácidos grasos  $\pm$  error estándar)

Trat. Acido Graso	Acidos grasos libres del plasma		Acidos grasos totales del plasma		Acidos grasos totales del tejido adiposo	
	bien nutridas	desnutridas	bien nutridas	desnutridas	bien nutridas	desnutridas
16:0	(11) 27.73 $\pm$ 0.74	$\neq$ (11) 31.26 $\pm$ 0.48	(11) 22.16 $\pm$ 0.67	(11) 21.00 $\pm$ 0.54	(12) 23.61 $\pm$ 0.39	(12) 22.70 $\pm$ 0.22
16:1n7	10.72 $\pm$ 0.41	$\neq$ 8.76 $\pm$ 0.43	4.56 $\pm$ 0.19	$\neq$ 6.19 $\pm$ 0.32	9.02 $\pm$ 0.18	$\neq$ 7.88 $\pm$ 0.39
18:0	3.93 $\pm$ 0.55	4.94 $\pm$ 0.25	5.95 $\pm$ 0.44	6.93 $\pm$ 0.38	1.36 $\pm$ 0.09	$\neq$ 2.23 $\pm$ 0.10
18:1n9	47.66 $\pm$ 0.84	49.34 $\pm$ 0.70	44.54 $\pm$ 0.68	$\neq$ 39.77 $\pm$ 1.30	59.79 $\pm$ 0.31	$\neq$ 61.51 $\pm$ 0.54
18:2n6	9.90 $\pm$ 0.87	$\neq$ 5.47 $\pm$ 0.31	12.95 $\pm$ 1.33	$\neq$ 16.95 $\pm$ 0.53	6.01 $\pm$ 0.12	5.67 $\pm$ 0.17
20:3n9	ND	ND	1.18 $\pm$ 0.12	$\neq$ 1.76 $\pm$ 0.17	ND	ND
20:4n6	ND	ND	7.18 $\pm$ 0.65	6.08 $\pm$ 0.56	ND	ND

( ) tamaño de la muestra

ND no detectables

$\neq$  diferencia estadísticamente significativa entre bien nutridas y desnutridas para cada ácido graso.

Cuadro 19

Efecto del estado nutricional sobre la composición de ácidos grasos libres del plasma, totales del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas alimentadas 16 semanas con la dieta M.

(promedio del porcentaje del total de ácidos grasos  $\pm$  error estándar)

Trat. Acido Graso	Acidos grasos libres del plasma		Acidos grasos totales del plasma		Acidos grasos totales del tejido adiposo	
	bien nutridas	desnutridas	bien nutridas	desnutridas	bien nutridas	desnutridas
	(12)	(9)	(12)	(9)	(12)	(12)
16:0	26.45 $\pm$ 0.51	26.54 $\pm$ 0.88	19.64 $\pm$ 0.58	19.26 $\pm$ 0.28	16.67 $\pm$ 0.22	16.56 $\pm$ 0.28
16:1n7	3.10 $\pm$ 0.21	4.09 $\neq$ $\pm$ 0.23	0.97 $\pm$ 0.10	1.68 $\neq$ $\pm$ 0.10	2.76 $\pm$ 0.20	2.86 $\pm$ 0.25
18:0	4.66 $\pm$ 0.29	4.87 $\pm$ 0.19	10.39 $\pm$ 0.53	9.62 $\pm$ 0.23	1.68 $\pm$ 0.14	2.28 $\neq$ $\pm$ 0.06
18:1n9	27.73 $\pm$ 0.45	24.48 $\neq$ $\pm$ 0.36	12.77 $\pm$ 0.85	12.18 $\pm$ 0.38	29.30 $\pm$ 0.11	30.91 $\pm$ 0.18
18:2n6	41.06 $\pm$ 0.54	40.14 $\pm$ 0.81	25.34 $\pm$ 0.75	32.85 $\neq$ $\pm$ 0.56	48.36 $\pm$ 0.47	46.75 $\pm$ 0.58
20:3n9	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20:4n6	ND	ND	30.42 $\pm$ 1.09	24.47 $\neq$ $\pm$ 0.65	ND	ND

( ) tamaño de la muestra

ND no detectables

$\neq$  diferencia estadísticamente significativas entre bien nutridas y desnutridas para cada ácido graso con una  $P < 0.05$



Efecto del cambio reciente en la fuente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la relación 18:1n9/18:2n6, en los AGT del tejido adiposo, AGL y AGT del plasma de ratas bien nutridas y desnutridas.

(promedio de la relación  $\pm$  error estándar)

Tratamientos Muestra	H	H1	H1C	M	M1	M1C
AGT del tejido adiposo bien nutridas	(12) a $9.99 \pm 0.21$	(11) b $8.12 \pm 0.36$	—	(12) a $0.61 \pm 0.06$	(10) a $0.65 \pm 0.01$	—
AGL del plasma bien nutridas	(5) d $5.24 \pm 0.61$	(6) e $3.34 \pm 0.15$	(6) e $3.55 \pm 0.40$	(4) f $0.58 \pm 0.01$	(6) a $0.74 \pm 0.02$	(6) a $0.72 \pm 0.02$
AGT del plasma bien nutridas	(5) h $3.54 \pm 0.59$	(6) i $1.57 \pm 0.08$	(6) i $1.73 \pm 0.14$	(4) j $0.49 \pm 0.05$	(6) a $0.83 \pm 0.05$	(6) a $0.78 \pm 0.05$
AGT del tejido adiposo desnutridas	(12) l $11.01 \pm 0.39$	(12) m $7.24 \pm 0.31$	—	(12) n $0.66 \pm 0.01$	(12) o $0.72 \pm 0.01$	—
AGL del plasma desnutridas	(5) p $8.67 \pm 0.65$	(6) q $1.46 \pm 0.02$	(6) r $2.59 \pm 0.21$	(6) s $0.61 \pm 0.02$	(6) r $2.77 \pm 0.41$	(6) t $1.16 \pm 0.08$
AGT del plasma desnutridas	(5) u $2.69 \pm 0.28$	(6) v $0.52 \pm 0.02$	(6) w $0.79 \pm 0.04$	(6) x $0.38 \pm 0.07$	(4) y $2.27 \pm 0.52$	(6) z $0.97 \pm 0.03$

( ) tamaño de la muestra

Los promedios entre las líneas que tienen la misma letra, no difieren entre sí.

Cuadro 21

Efecto de los diferentes tratamientos sobre la relación 18:2n6/20:4n6 en los AGT del plasma en ratas bien nutridas y desnutridas.

(promedio de la relación  $\pm$  error estándar)

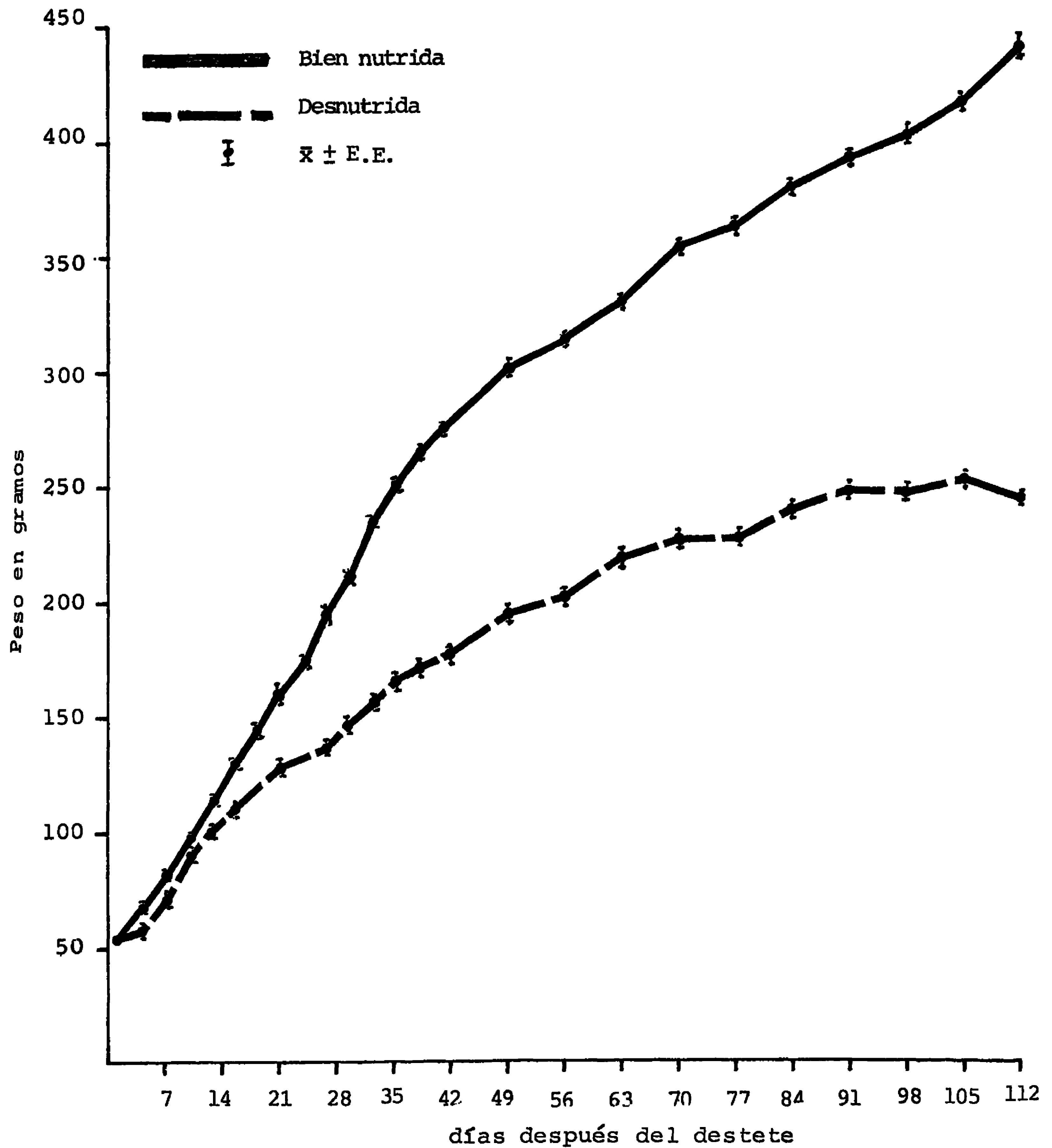
Tratamiento Estado Nutricional	H	HC	H1	H1C	M	MC	M1	M1C
BIEN NUTRIDAS	(5) $2.35 \pm 0.78$	(6) $1.78 \pm 0.26$	(6) $0.65 \pm 0.07$	(6) $0.69 \pm 0.07$	(4) $0.91 \pm 0.04$	(5) $0.77 \pm 0.06$	(6) $0.99 \pm 0.07$	(6) $0.79 \pm 0.10$
DESNUTRIDAS	(5) $\neq$ $3.84 \pm 0.80$	(6) $2.54 \pm 0.22$	(6) $1.71 \pm 0.10$	(6) $1.39 \pm 0.16$	(6) $1.45 \pm 0.09$	(6) $1.27 \pm 0.06$	(4) $1.71 \pm 0.21$	(6) $1.12 \pm 0.06$

( ) tamaño de la muestra

$\neq$  Diferencia no significativa P 0.05.  
Todas las comparaciones son entre bien nutridas y desnutridas con el mismo tratamiento.

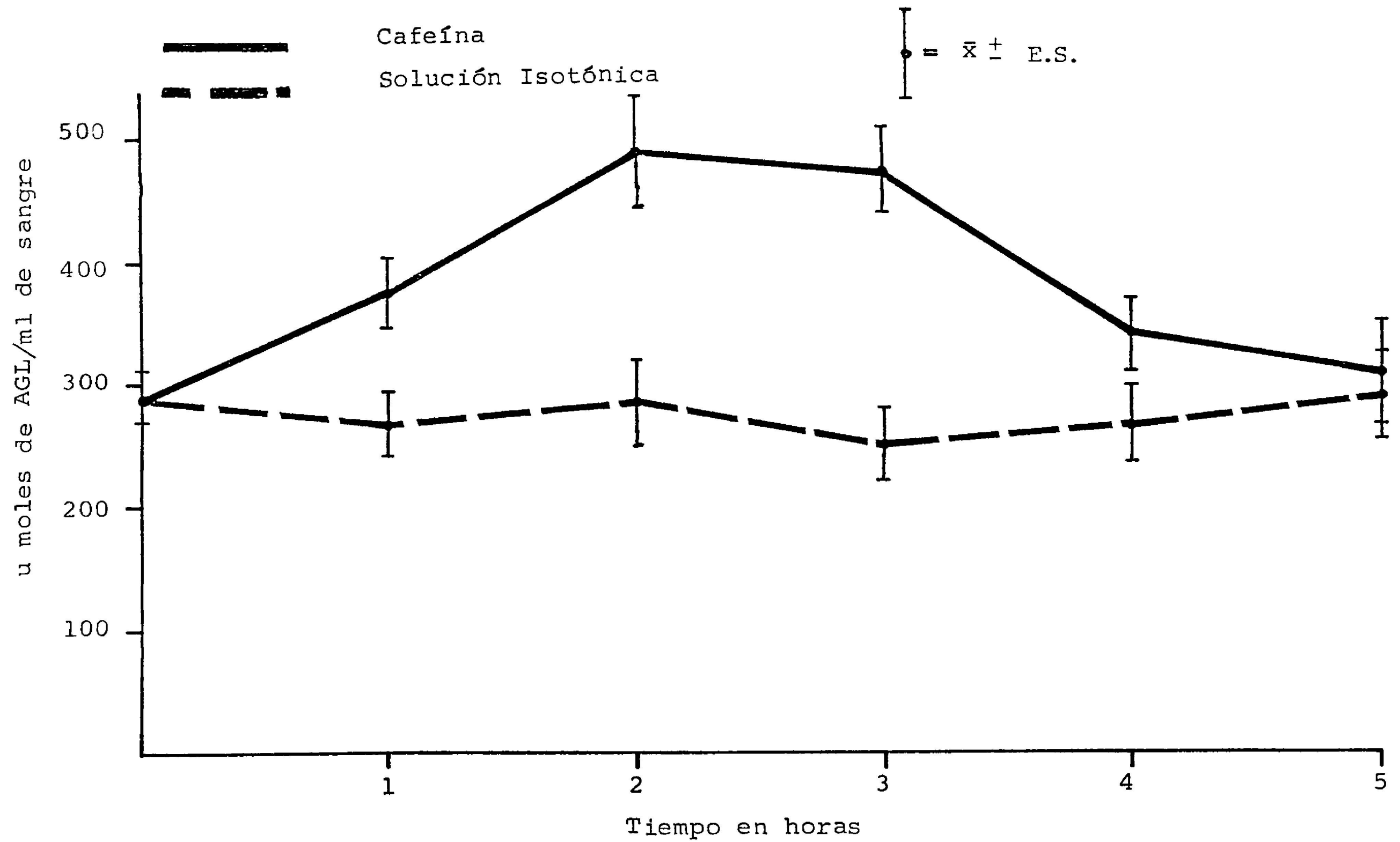
Gráfica 1

Curvas de peso de ratas bien nutridas y de ratas desnutridas durante 16 semanas.



Gráfica 2

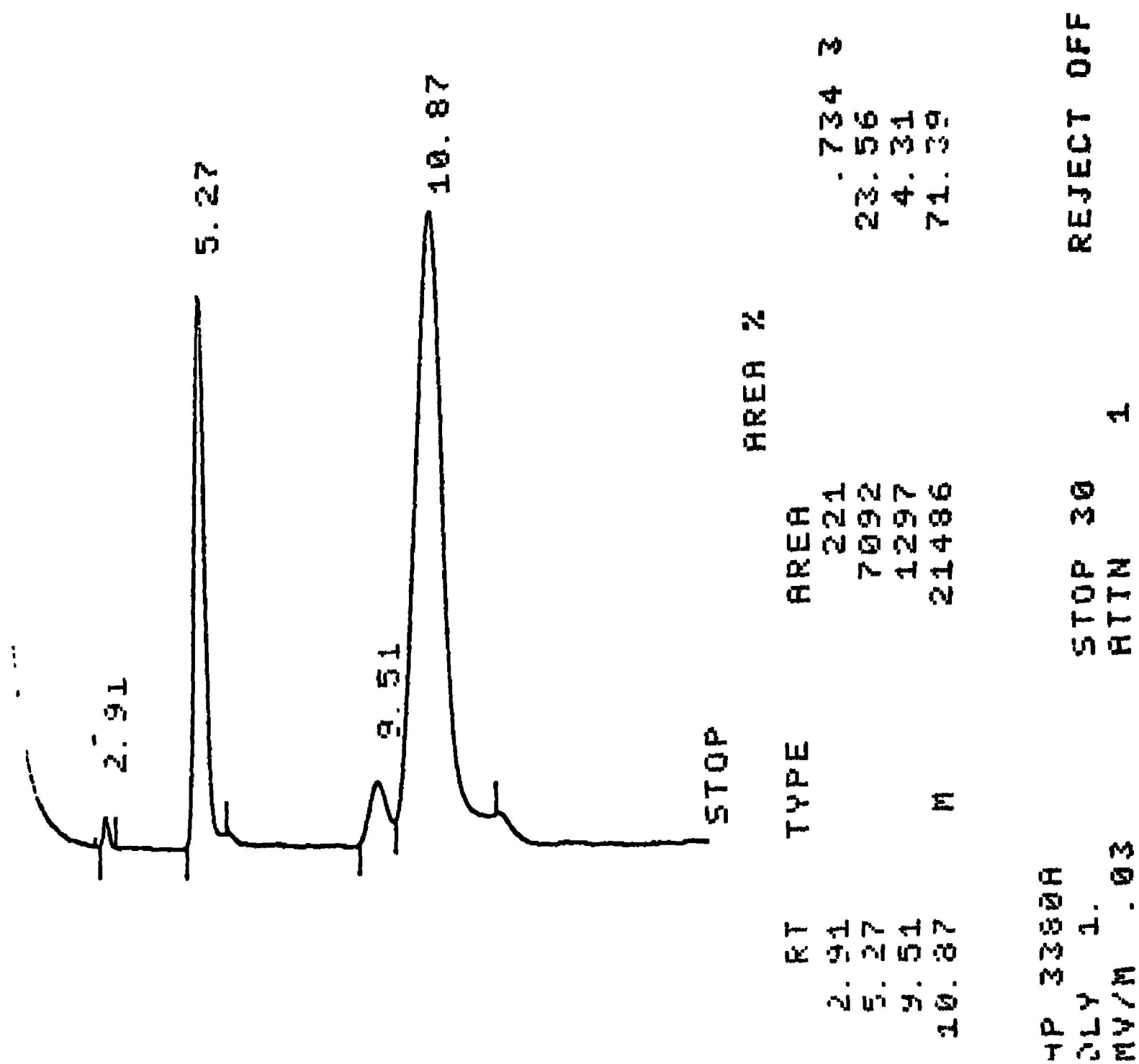
Efecto de la administración I.P. de Benzoato de Sodio y cafeína y de solución salina isotónica sobre la concentración de AGL.





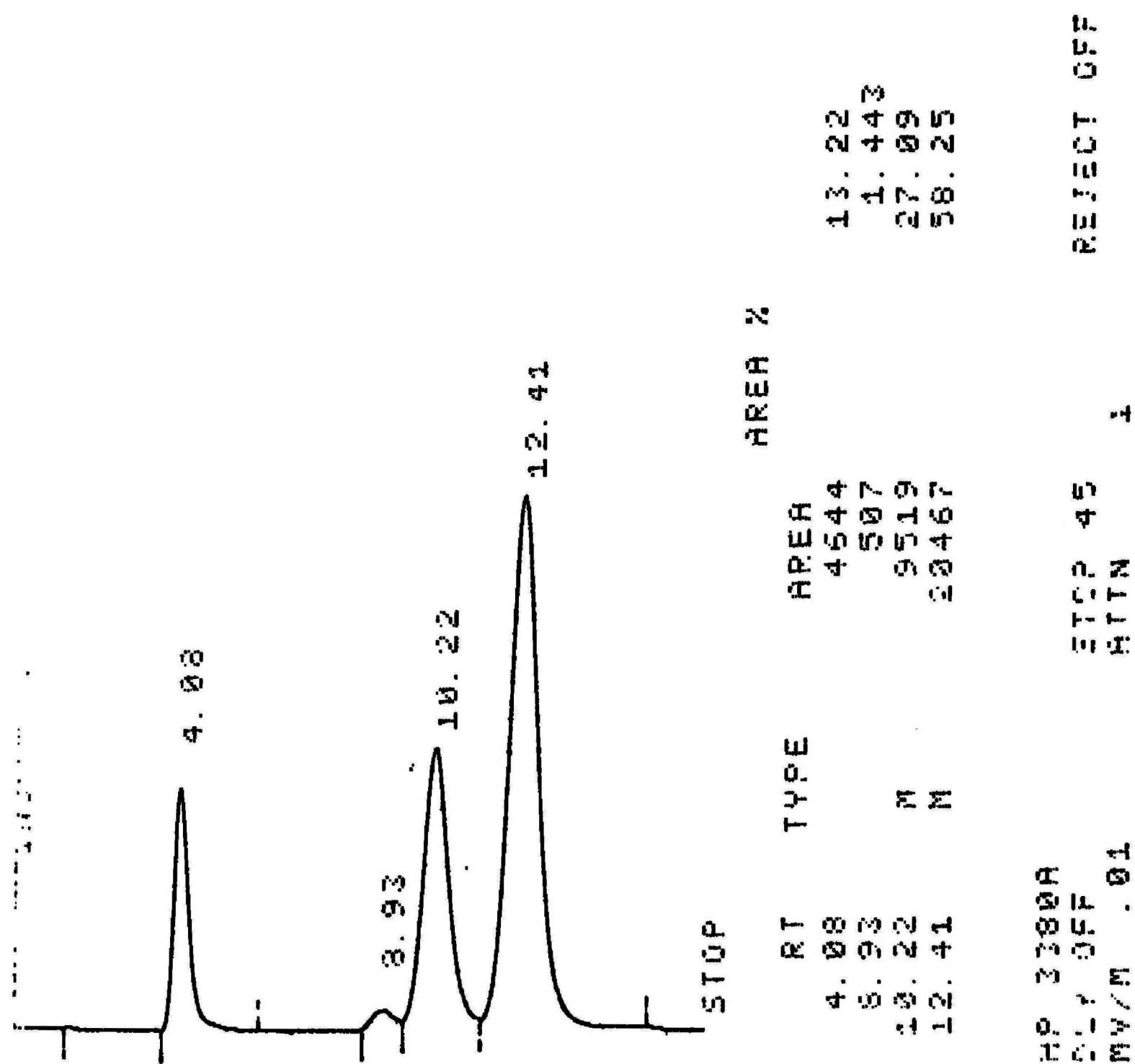
Gráfica 3

Cromatograma del aceite de algodón hidrogenado utilizado en la preparación de la dieta H.



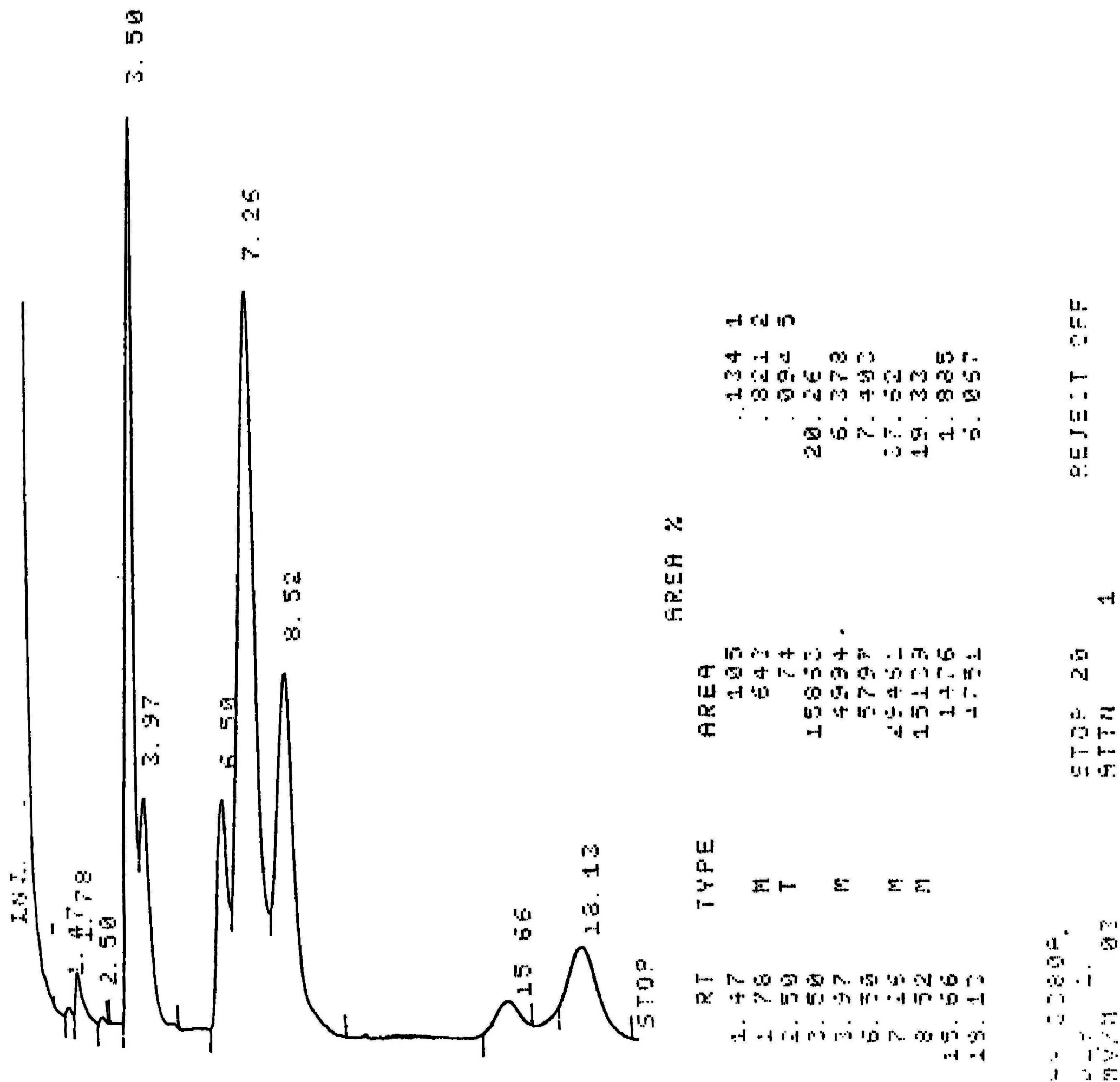
Gráfica 4

Cromatograma del aceite de maíz utilizado en la preparación de la dieta M.



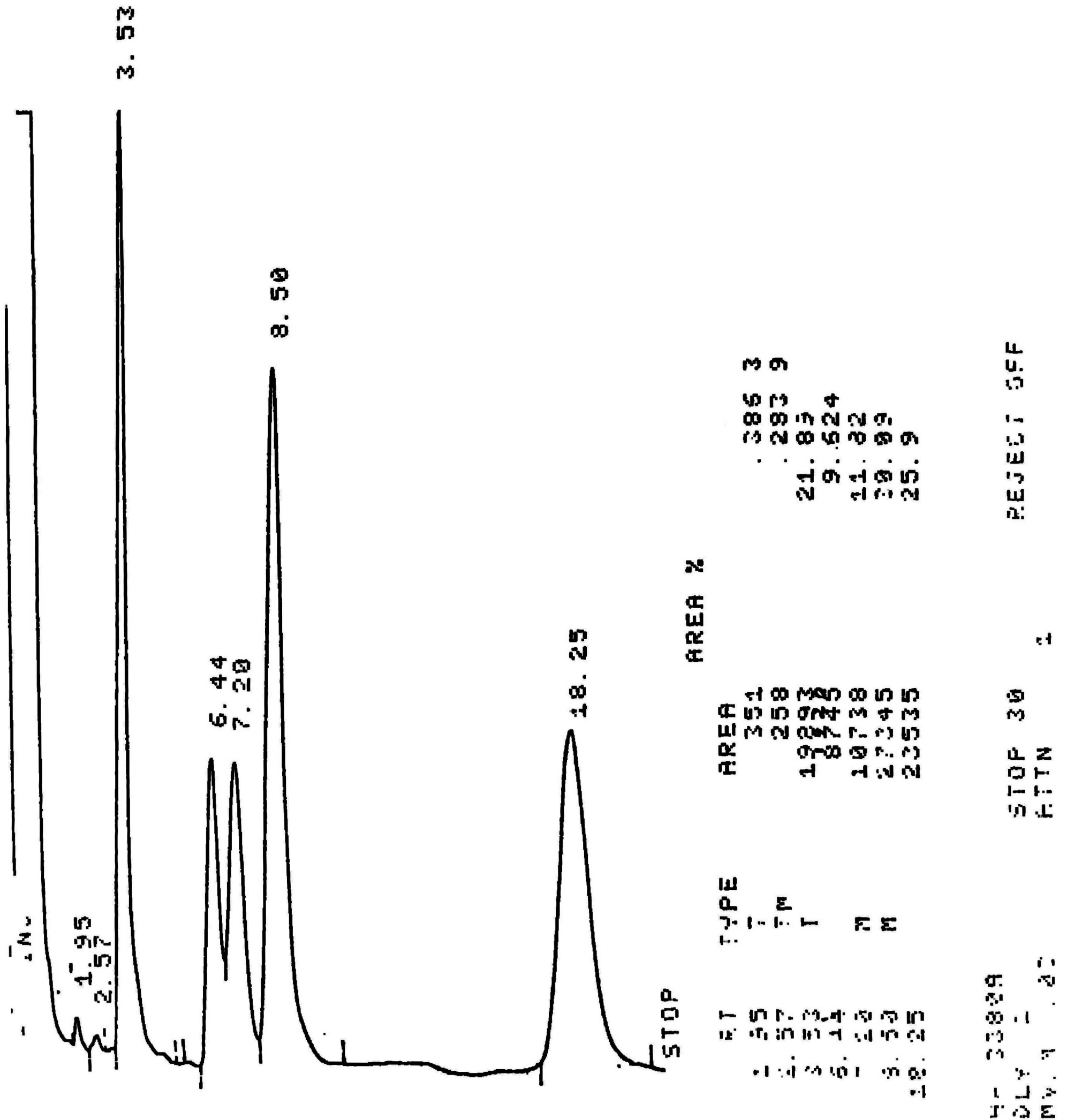
Gráfica 5

Cromatograma de los AGT del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la dieta H.



### Gráfica 6

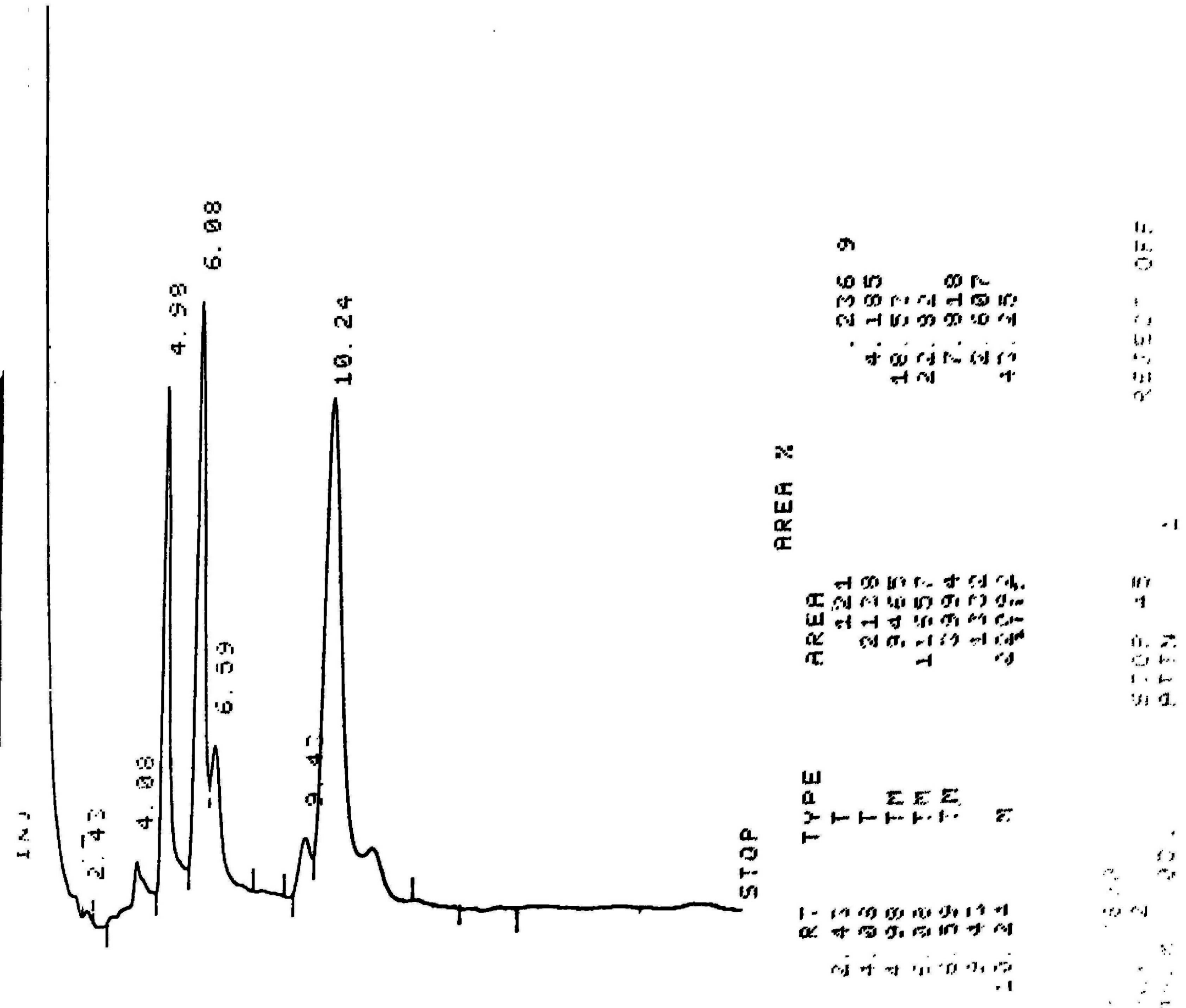
**Cromatograma de los AGT del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la dieta M.**





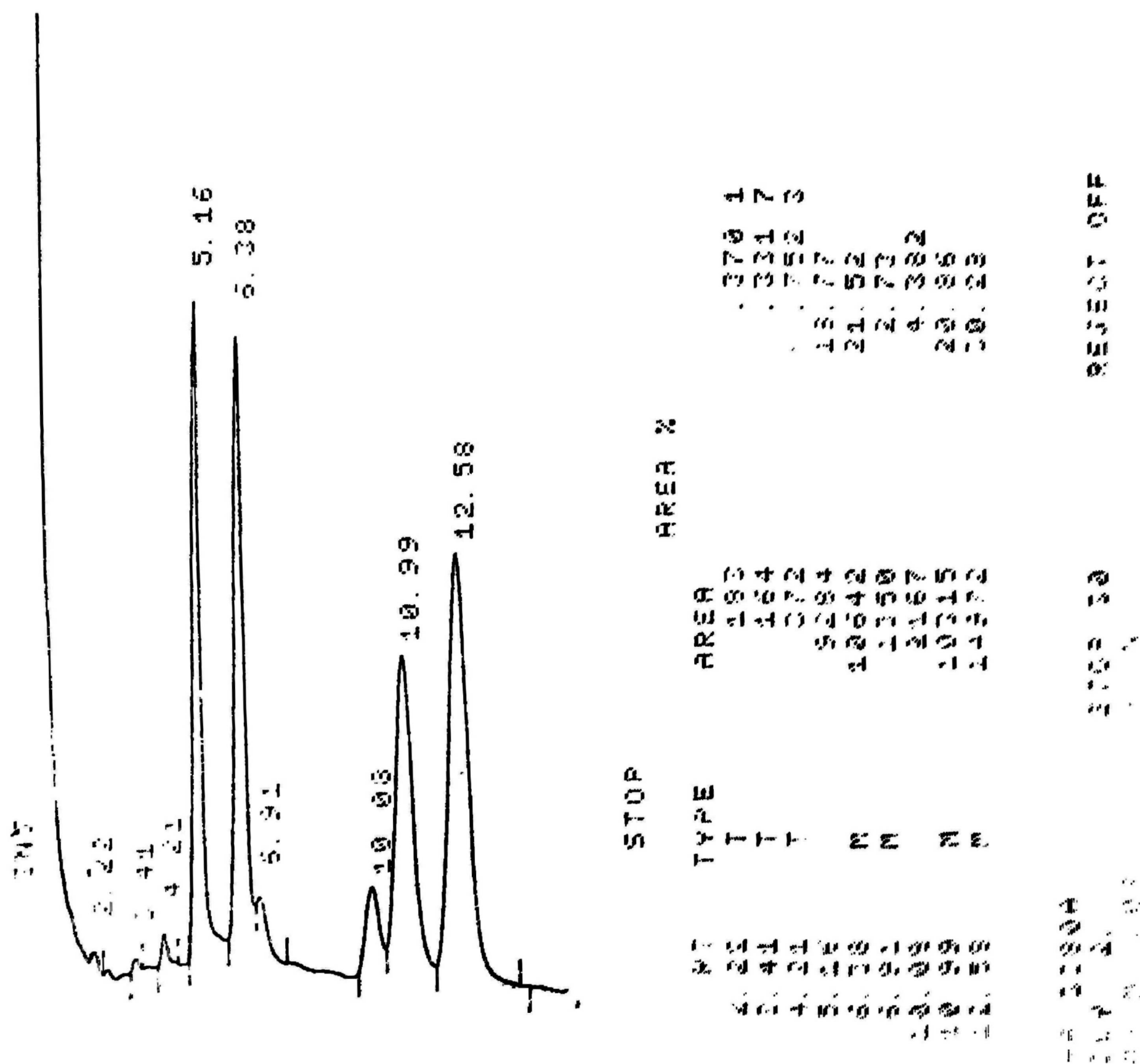
Gráfica 7

Cromatograma de los AGL del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la dieta H.



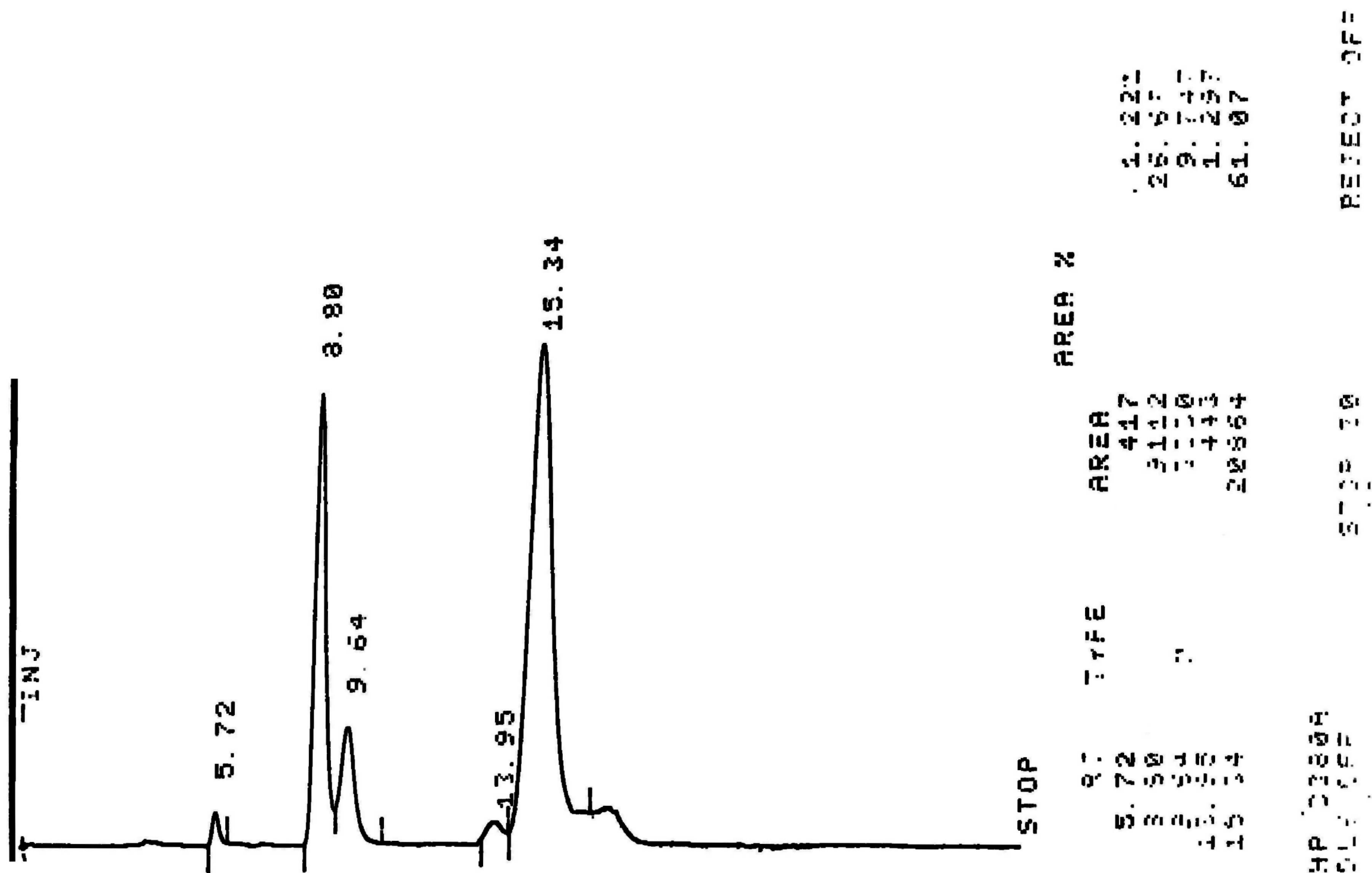
Gráfica 8

Cromatograma de los AGL del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la dieta M.



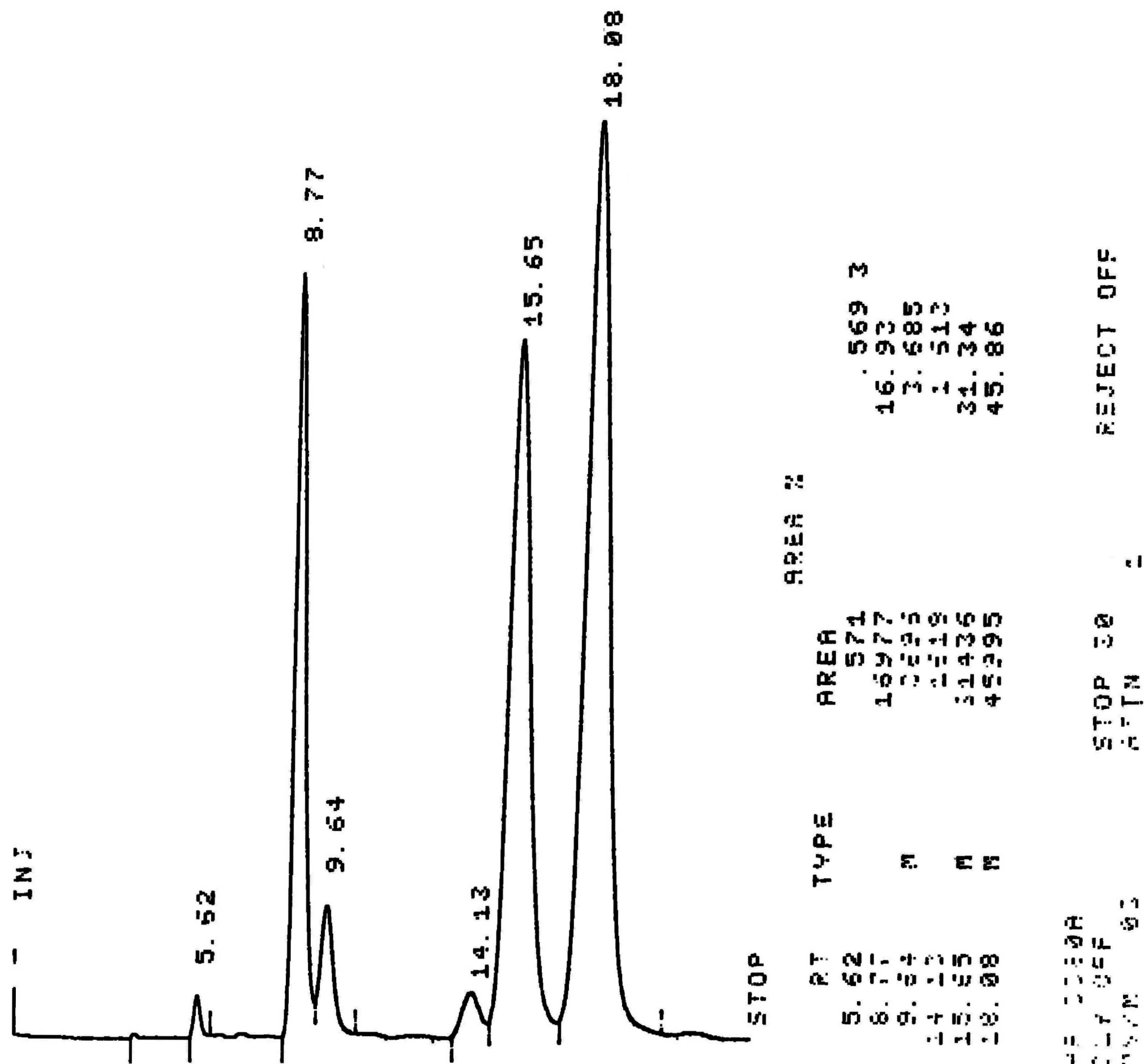
Gráfica 9

Cromatograma de los AGT del tejido adiposo de las ratas alimentadas crónicamente con la dieta H.



Gráfica 10

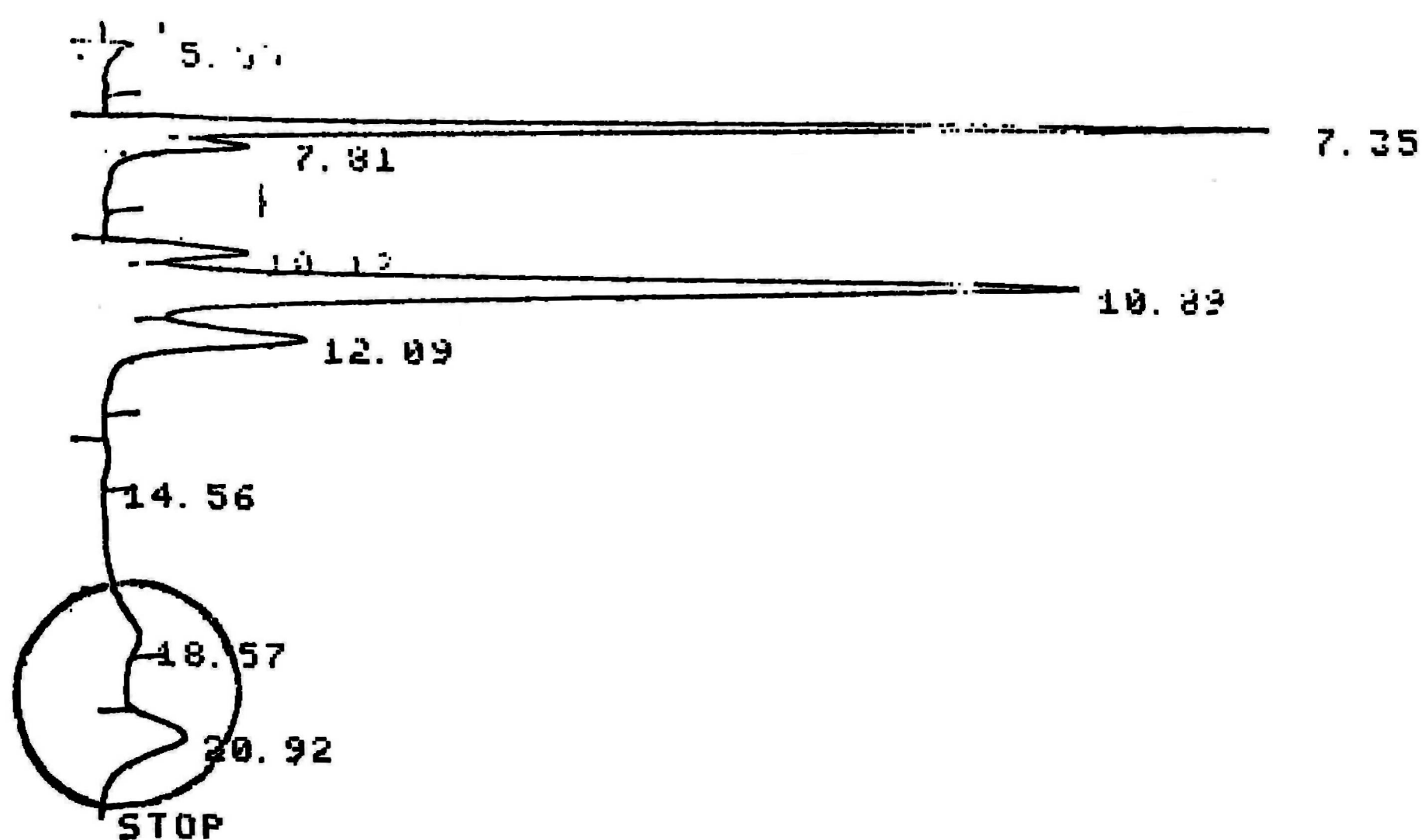
Cromatograma de los AGT del tejido adiposo de las ratas alimentadas crónicamente con la dieta M.





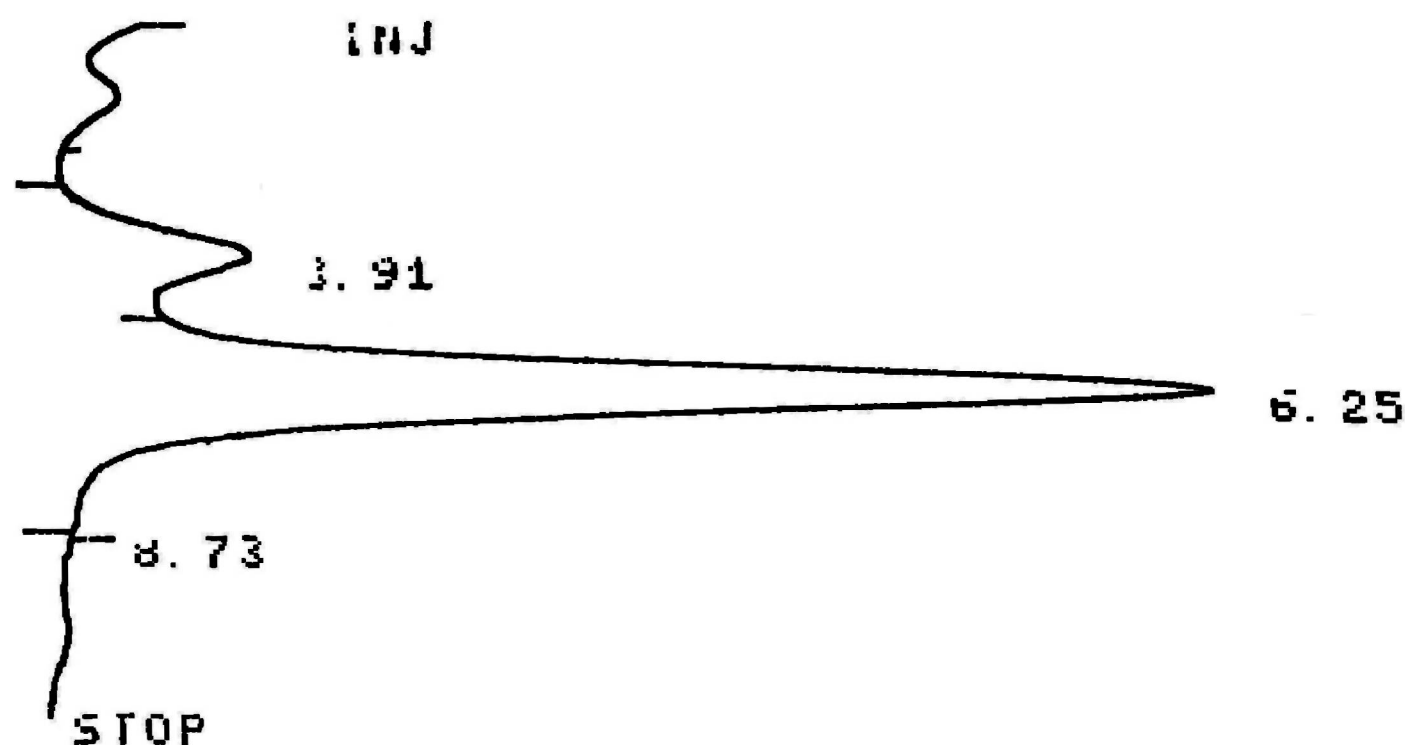
Gráfica 11

Cromatograma de los AGT del plasma de ratas alimentadas crónicamente con la dieta H.



RT	TYPE	AREA	AREA %
4.83		9	
5.55		290	.567 1
7.35		10970	25.23
7.81	M	2066	4.752
10.12		2135	4.911
10.89	M	20524	47.21
12.09	M	4920	11.32
14.56		125	.287 5
18.57		476	1.095
20.92		1969	4.529

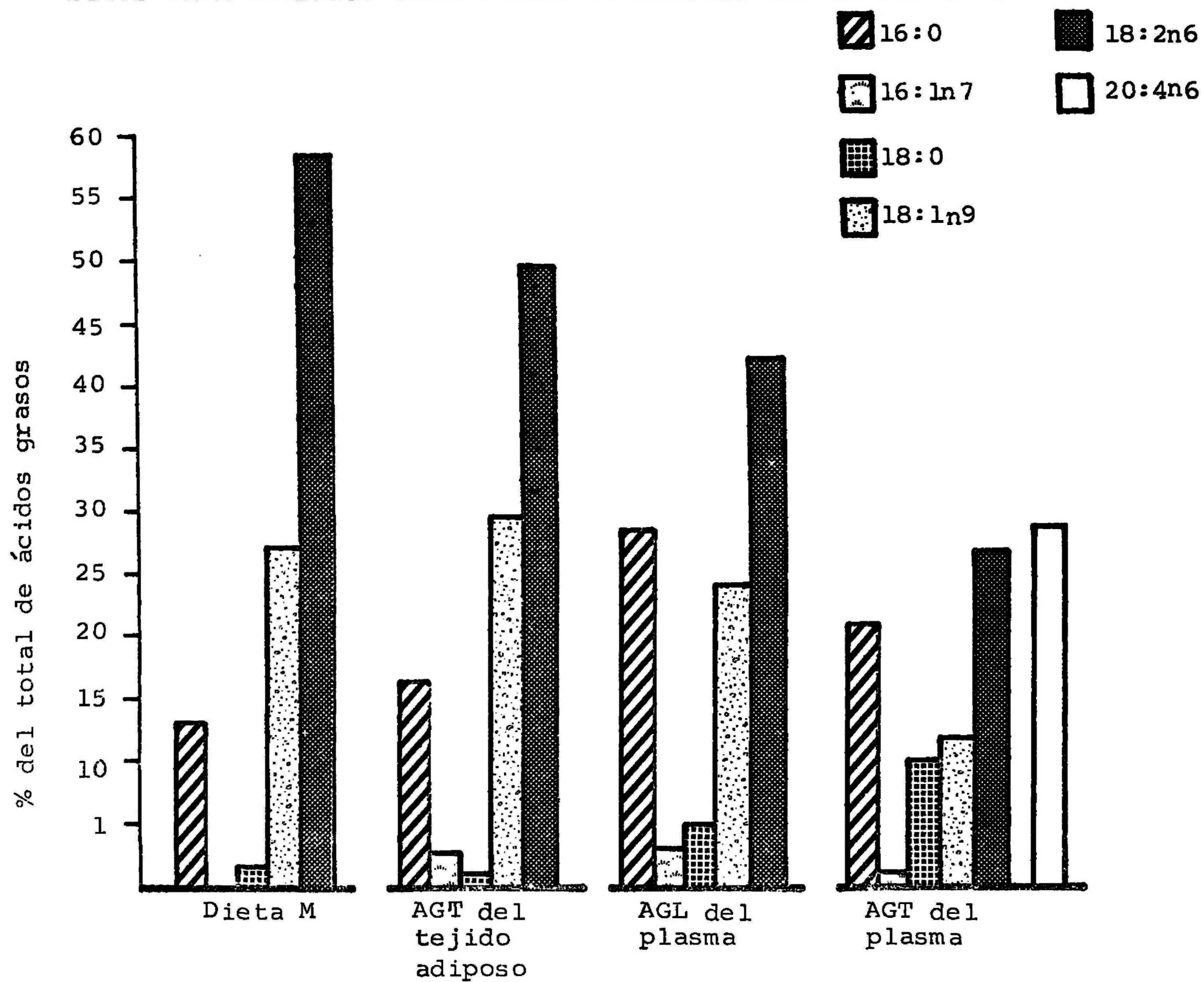
HP 3380A  
 DLY 2. STOP 30 REJECT OFF  
 MV/M .01 HTTN 1



RT	TYPE	AREA	AREA %
3.91		1031	17.45

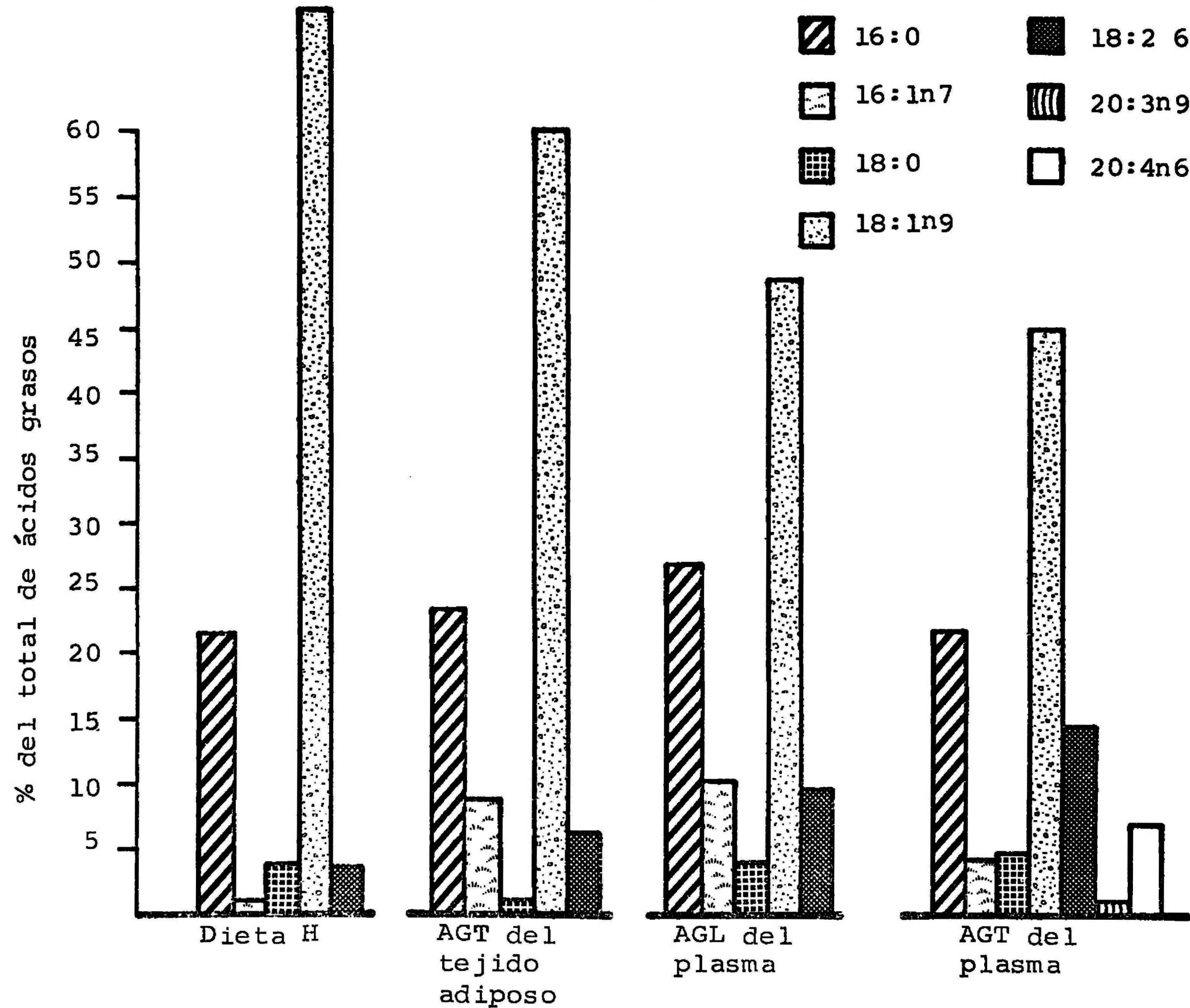
Gráfica 12

Efecto de la ingesta crónica de ácidos grasos sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma, libres del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas bien nutridas alimentadas 16 semanas con la dieta M.



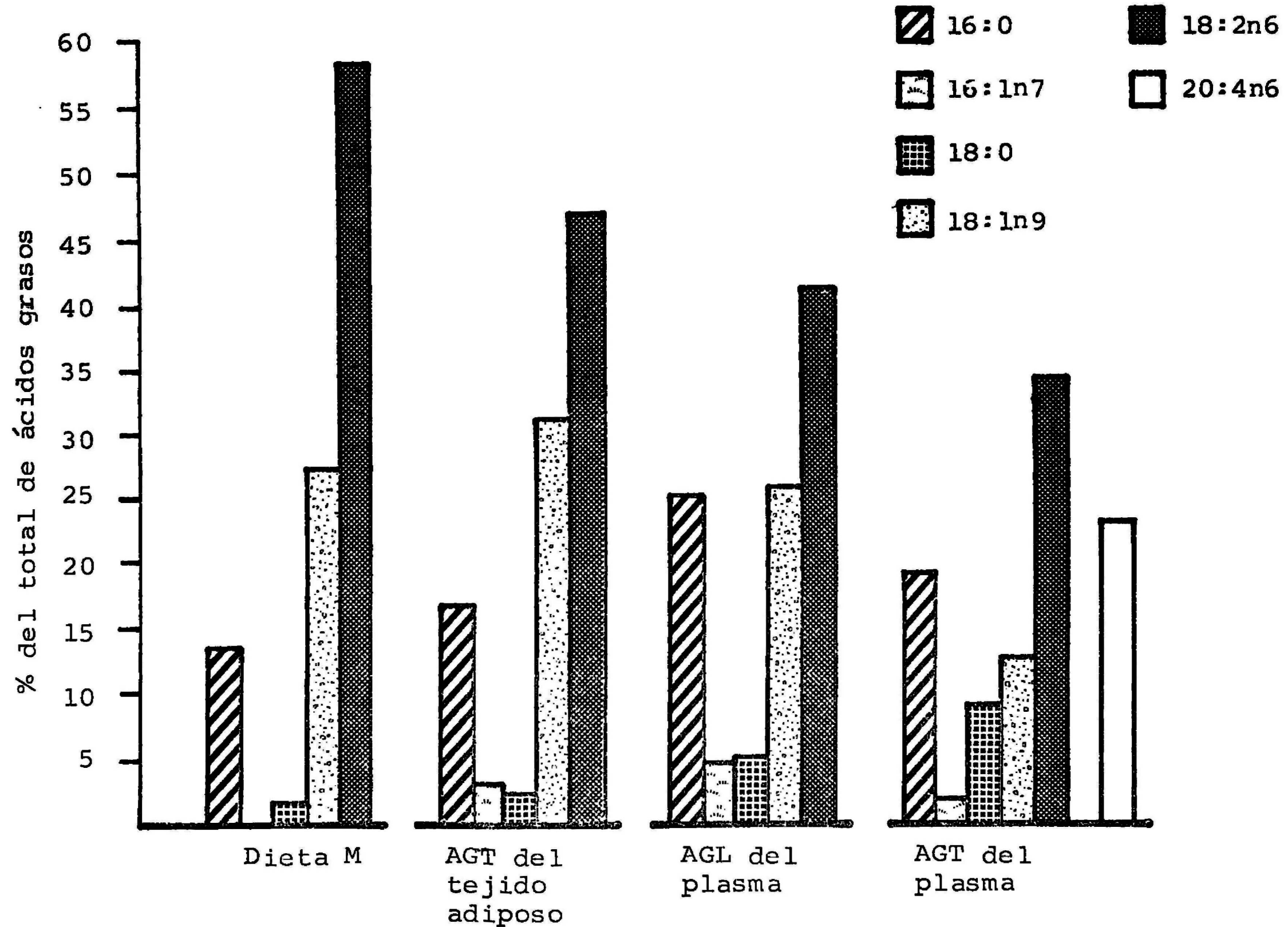
Gráfica 13

Efecto de la ingesta crónica de ácidos grasos sobre la composición de los ácidos totales del plasma, libres del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas bien nutridas alimentadas 16 semanas con la dieta H.



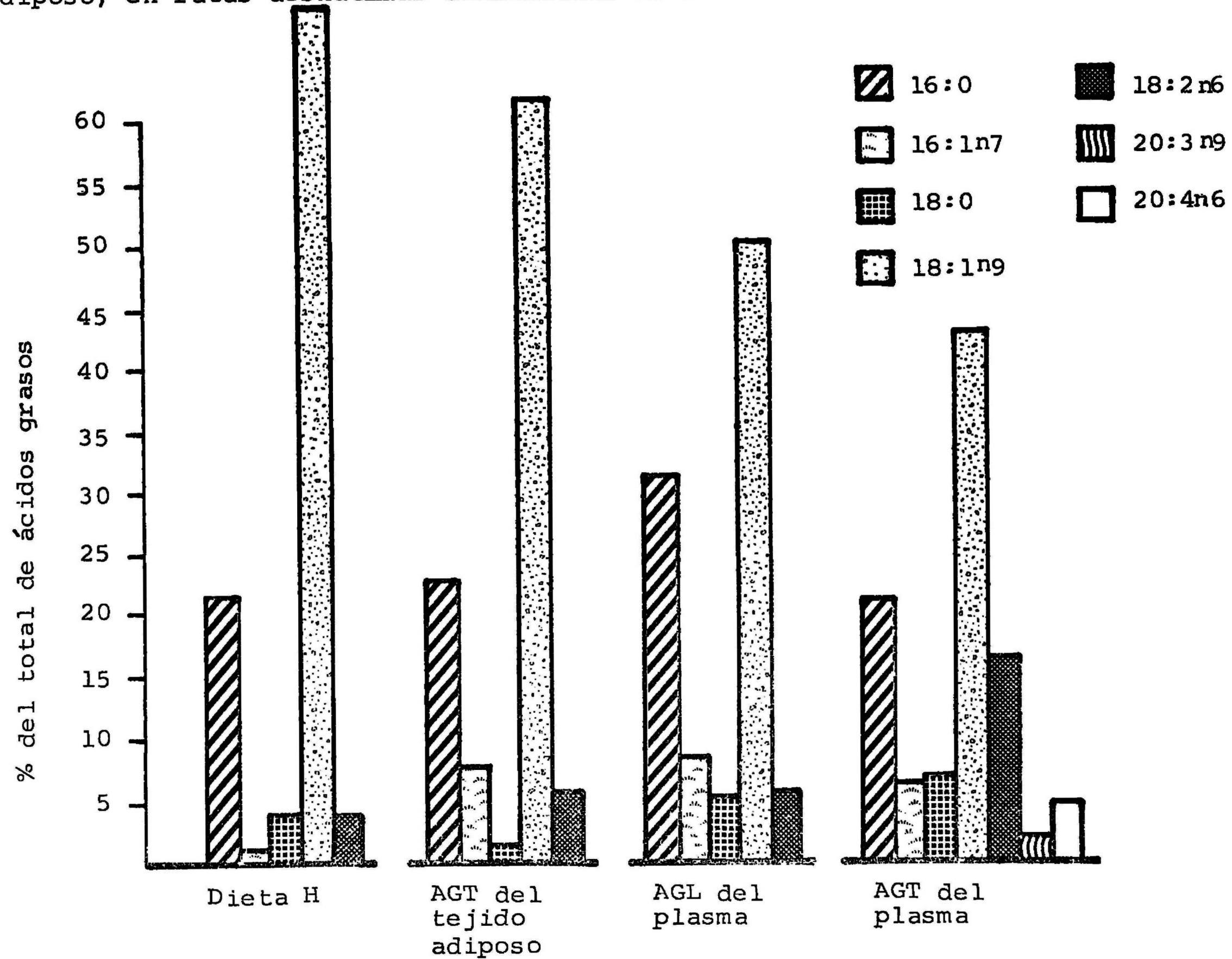
Gráfica 14

Efecto de la ingesta crónica de ácidos grasos sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma, libres del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas desnutridas alimentadas 16 semanas con la dieta M.



Gráfica 15

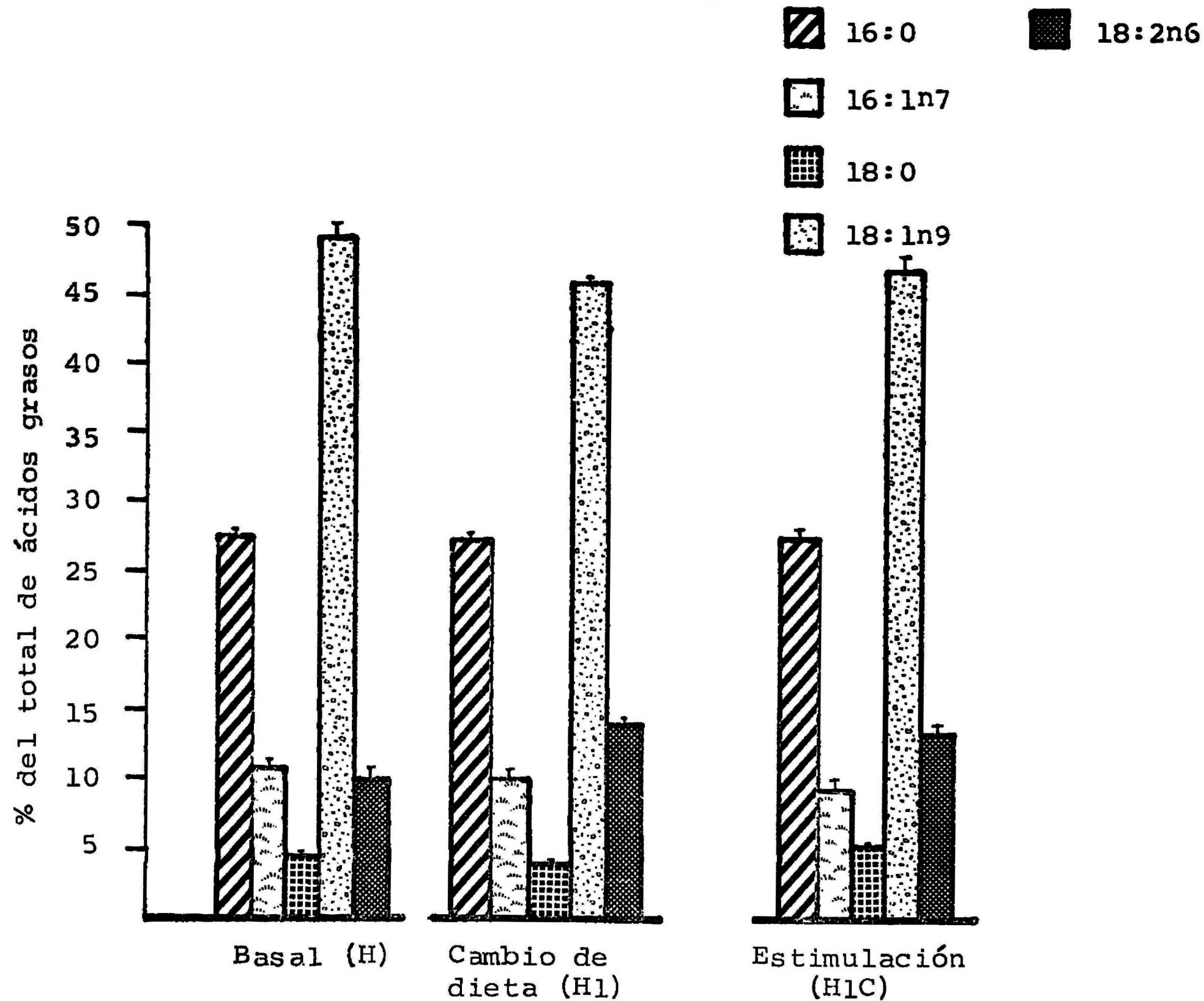
Efecto de la ingesta crónica de ácidos grasos sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma, libres del plasma y totales del tejido adiposo, en ratas desnutridas alimentadas 16 semanas con la dieta H.





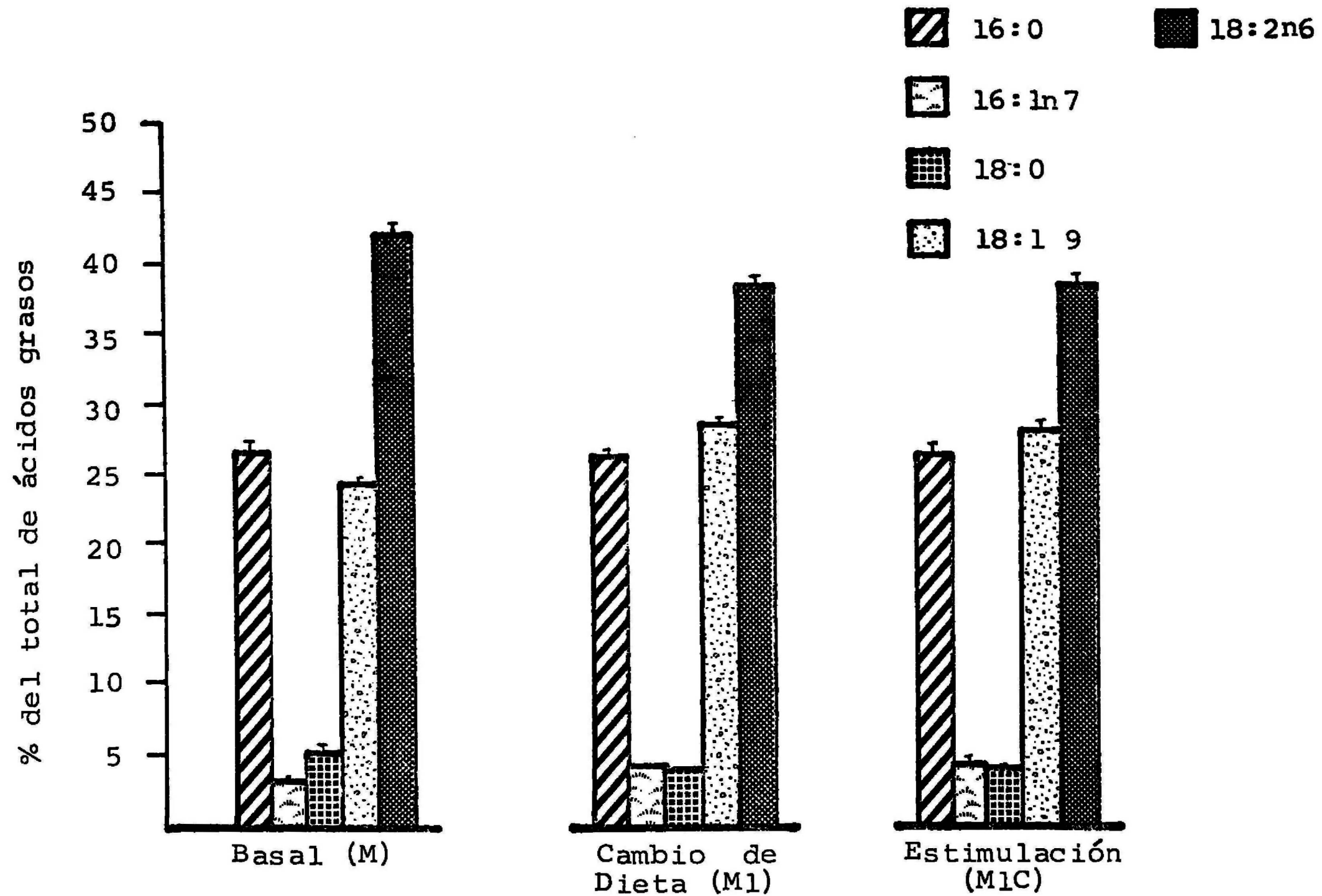
Gráfica 16

Efecto de la ingesta reciente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos libres del plasma, en ratas bien nutridas alimentadas inicialmente con la dieta H.



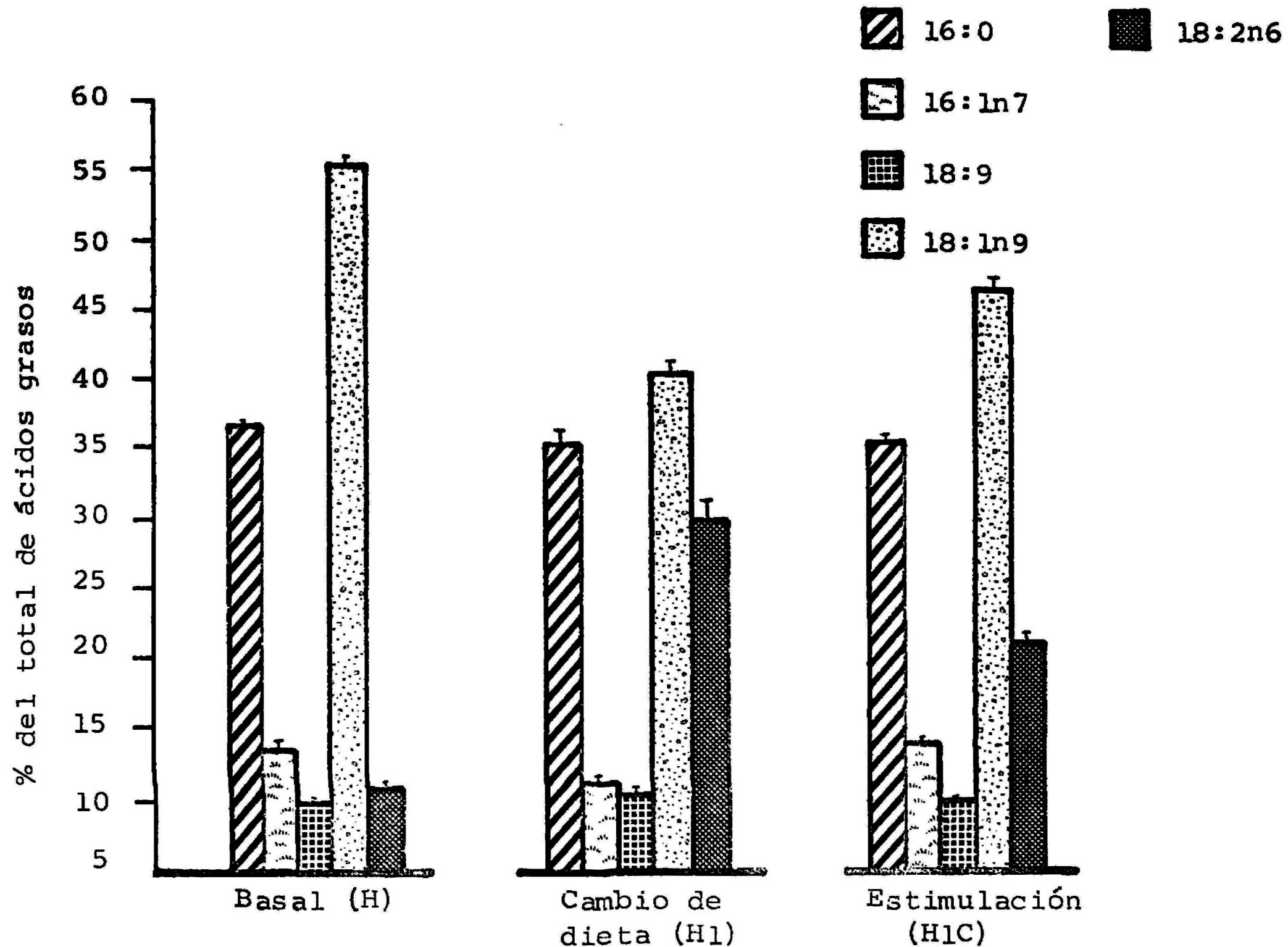
Gráfica 17

Efecto de la ingesta reciente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos libres del plasma, en ratas bien nutridas alimentadas inicialmente con la dieta M.



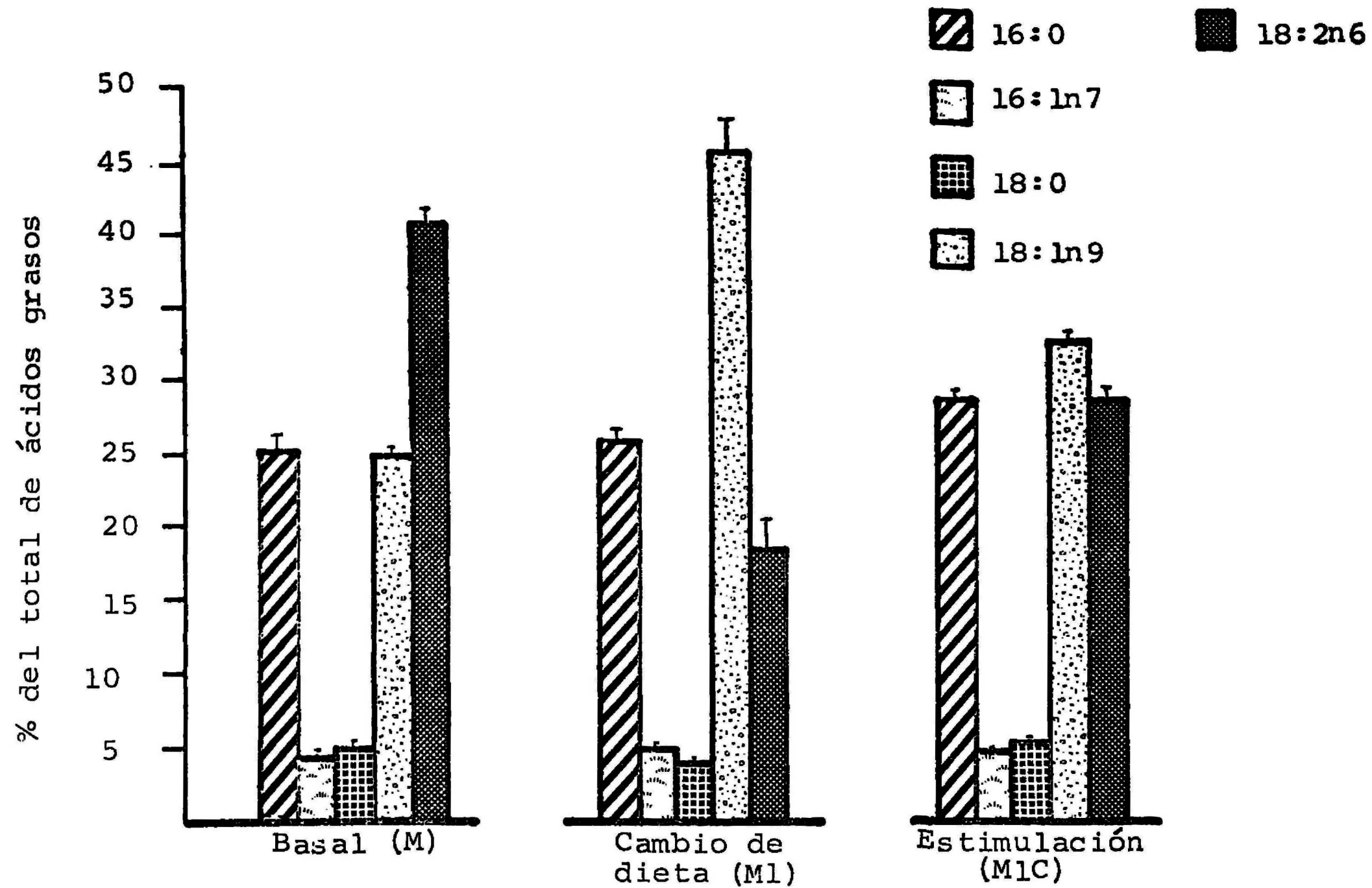
Gráfica 18

Efecto de la ingesta reciente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos libres del plasma, en ratas desnutridas alimentadas inicialmente con la dieta H.



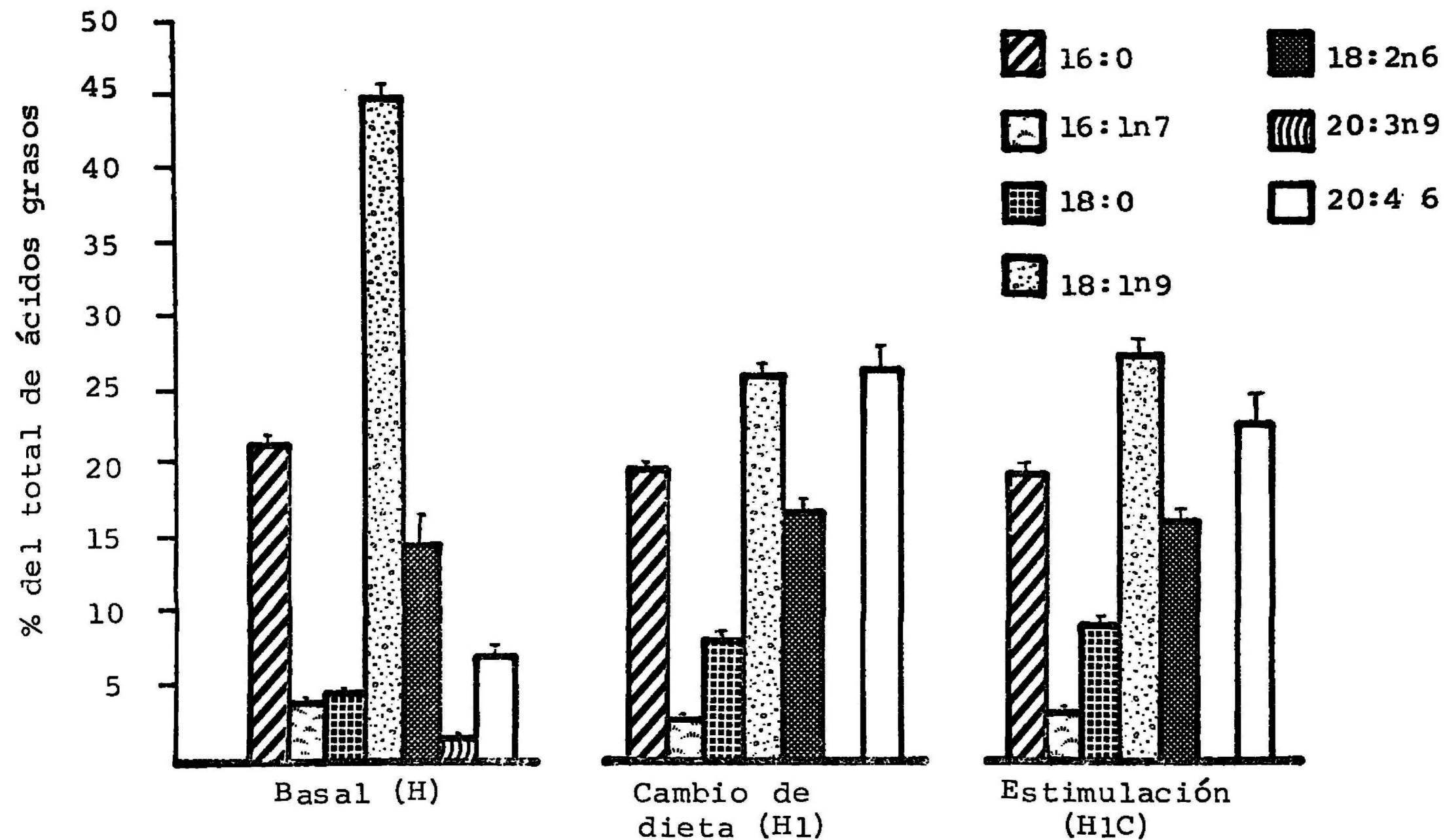
Gráfica 19

Efecto de la ingesta reciente de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos libres, en ratas desnutridas alimentadas inicialmente con la dieta M



Gráfica 20

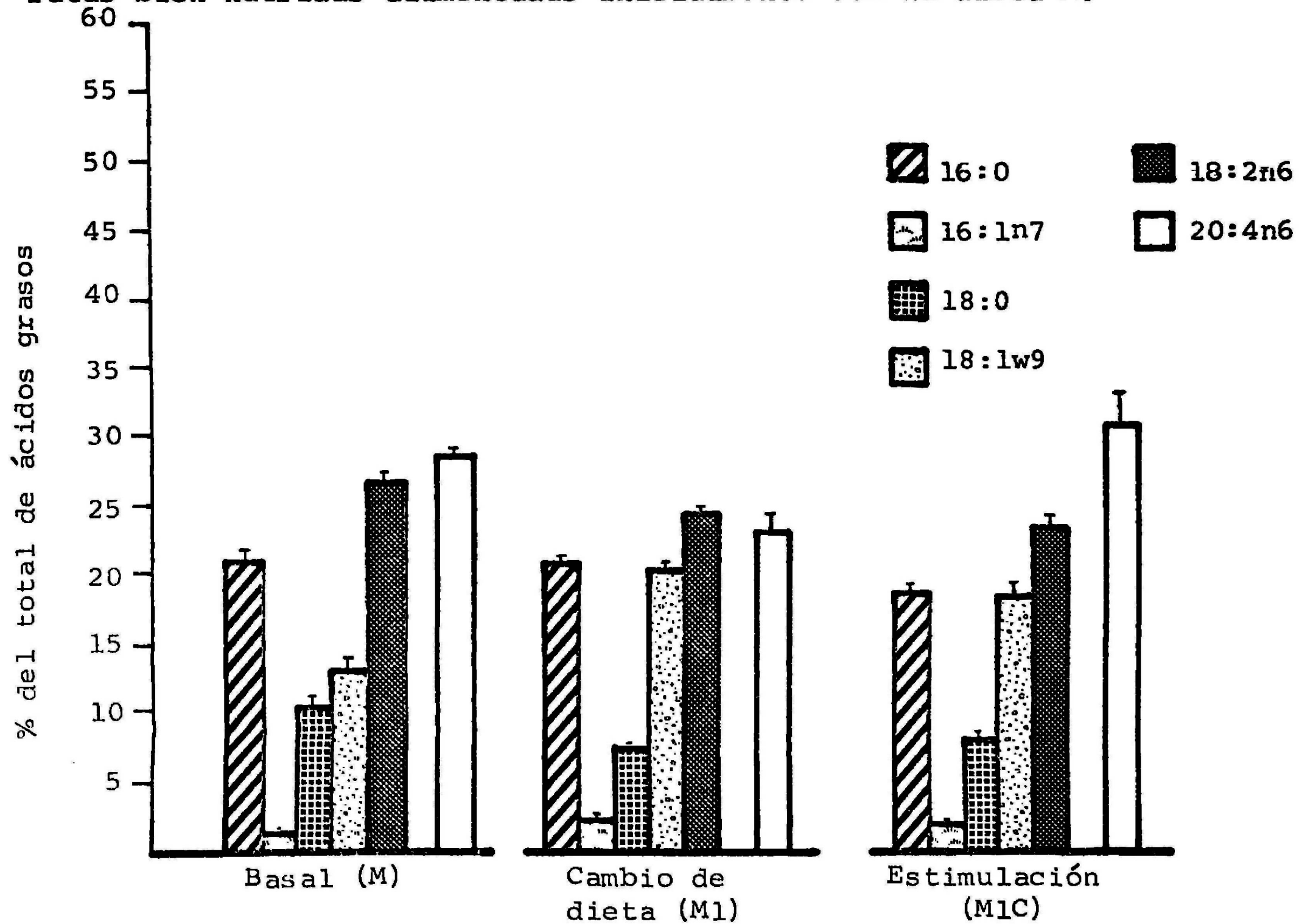
Efecto del cambio reciente en la ingesta de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma, en ratas bien nutridas alimentadas inicialmente con la dieta H.





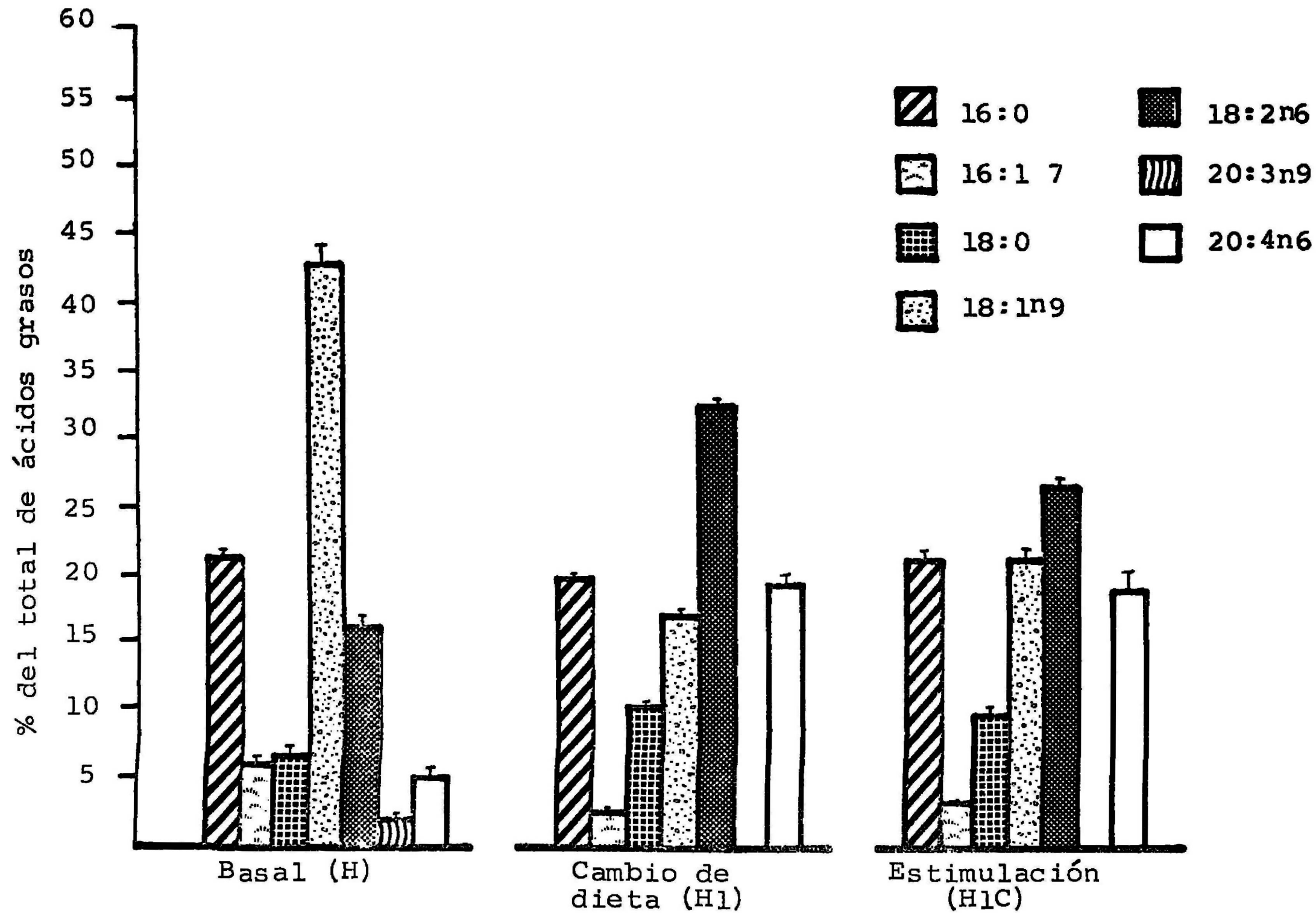
Gráfica 21

Efecto del cambio reciente en la ingesta de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma, en ratas bien nutridas alimentadas inicialmente con la dieta M.



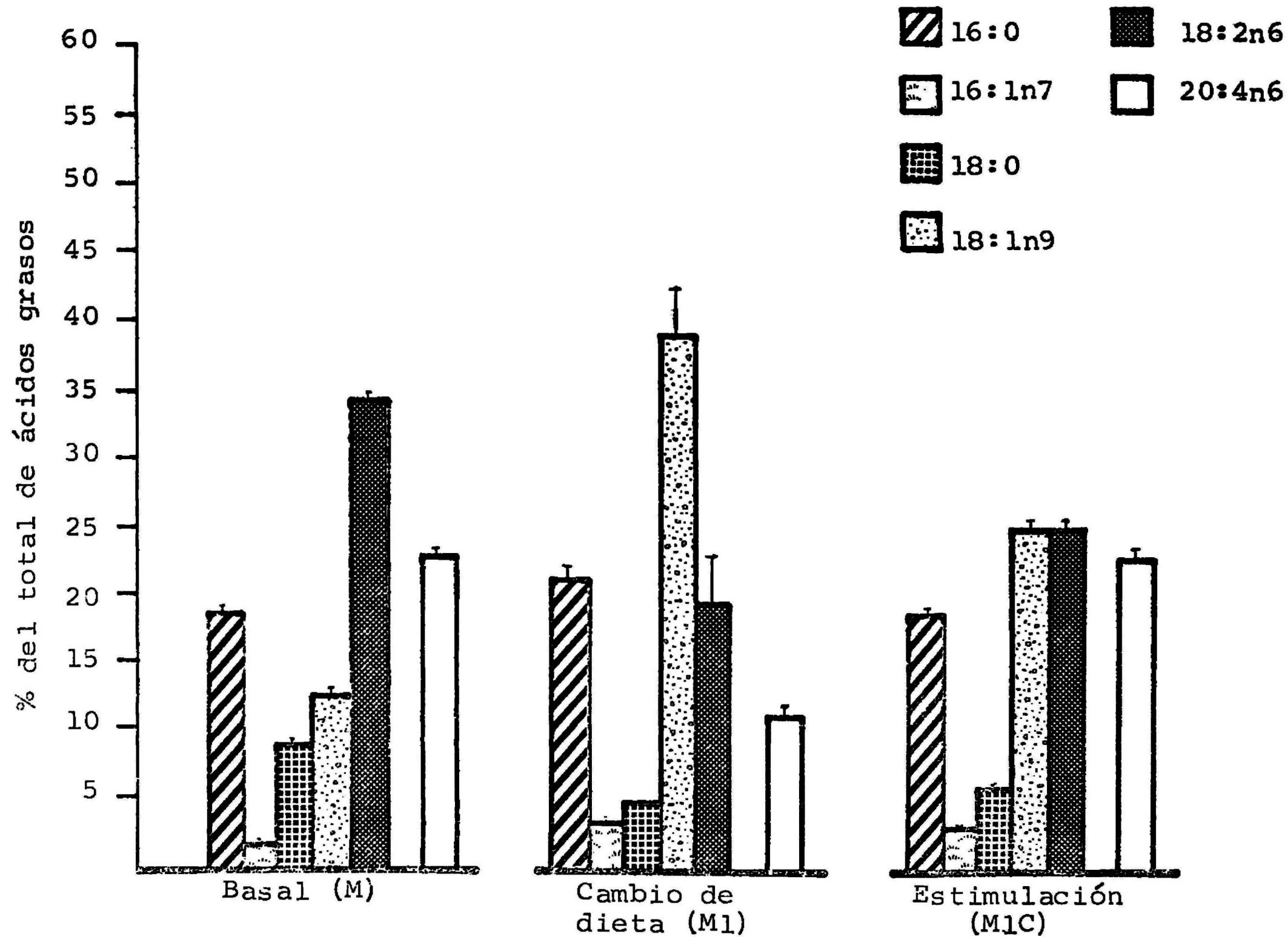
Gráfica 22

Efecto del cambio reciente en la ingesta de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma en ratas desnutridas alimentadas inicialmente con la dieta H.



Gráfica 23


Efecto del cambio reciente en la ingesta de ácidos grasos y de la estimulación con cafeína, sobre la composición de los ácidos grasos totales del plasma en ratas desnutridas alimentadas inicialmente con la dieta M.




Va. Bo. Comité de Tesis



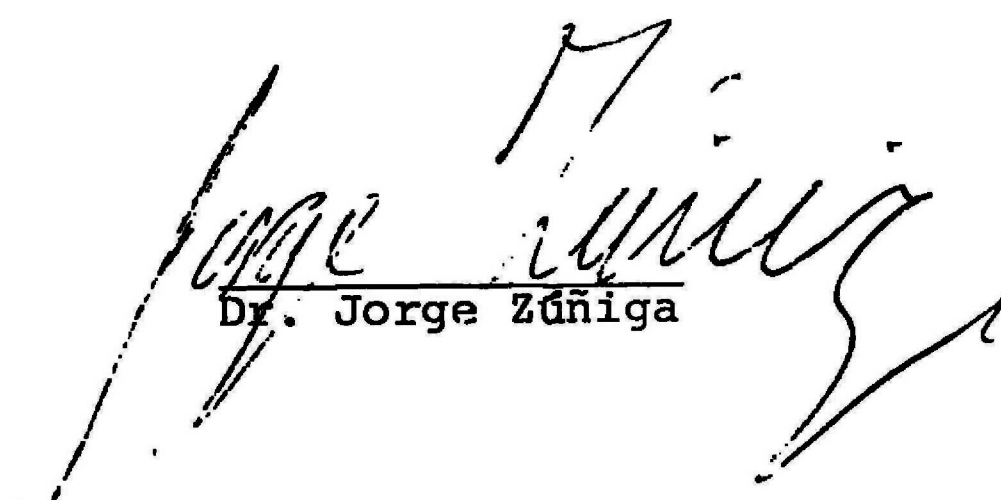
Dr. Fernando Viteri



Enrique Murillo Franco



Dr. Oscar Pineda



Dr. Jorge Zúñiga

Lic. Leonel Carrillo  
Decano de la Facultad  
de Ciencias Químicas y  
Farmacia