



**CORRELACIÓN ENTRE LOS ÁCIDOS GRASOS EN
SUERO Y FOSFOLÍPIDOS DE MEMBRANA.
ESTUDIO EN NIÑOS CONTROL Y CON TRASTORNOS
NEUROLÓGICOS.**



**Memoria presentada para
optar al Grado de Doctora por:
MARÍA JOSÉ HIDALGO NAVARRO**

**Director de Tesis:
Prof. Dr.: Ernesto Cortés Castell**

Enero 2013



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

Depto. de Farmacología, Pediatría y
Química Orgánica

Ernesto Cortés Castell, profesor de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

CERTIFICA QUE:

D^a María José Hidalgo Navarro ha realizado el trabajo titulado: "**CORRELACIÓN ENTRE LOS ÁCIDOS GRASOS EN SUERO Y FOSFOLÍPIDOS DE MEMBRANA. ESTUDIO EN NIÑOS CONTROL Y CON TRASTORNOS NEUROLÓGICOS**" en el Departamento de Farmacología, Pediatría y Química Orgánica bajo mi dirección.

De lo cual doy fe en San Juan 30 de junio de 2012.

Fdo.: Ernesto Cortés Castell



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

Depto. de Farmacología, Pediatría y
Química Orgánica

*Francisco José Horga de la Parte, Director del Departamento de Farmacología,
Pediatría y Química Orgánica*

CERTIFICA QUE:

D^a María José Hidalgo Navarro ha realizado el trabajo titulado: "**CORRELACIÓN ENTRE LOS ÁCIDOS GRASOS EN SUERO Y FOSFOLÍPIDOS DE MEMBRANA. ESTUDIO EN NIÑOS CONTROL Y CON TRASTORNOS NEUROLÓGICOS**" en el Departamento de Farmacología, Pediatría y Química Orgánica bajo la dirección del Prof. de este departamento Ernesto Cortés Castell

De lo cual doy fe en San Juan, a 30 de junio de 2012

Fdo.: Dr. Fco. José Horga de la Parte

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.	Pág. 21
1.1.- Ácidos grasos.	Pág. 23
1.2.- Metabolismo ácidos grasos.	Pág. 26
1.3.- Ácidos grasos esenciales.	Pág. 30
1.4.- Ácidos grasos trans.	Pág. 34
1.5.- Funciones específicas de algunos ácidos grasos.	Pág. 38
1.5.1. Ácido Linoleico Conjugado (CLA).	Pág. 38
1.5.2. Ácido Docosahexaenoico (DHA).	Pág. 38
1.6. Ácidos grasos y enfermedad.	Pág. 41
1.6.1. Ácidos grasos trans y enfermedad coronaria.	Pág. 41
1.6.2. Déficit nutricional de ácidos poliinsaturados.	Pág. 43
1.6.2.1. Efectos en las neuronas.	Pág. 43
1.6.2.2. Repercusión en las células cardiacas.	Pág. 45
1.6.2.3. Ácidos grasos omega-3 en las enfermedades mentales.	Pág. 45
1.6.3. Enfermedades metabólicas en las que están implicados ácidos grasos.	Pág. 49

1.6.3.1. Trastornos del ciclo de la carnitina y de la beta-oxidación de los ácidos grasos.	Pág. 49
1.6.3.2. Trastornos ligados al peroxisoma.	Pág. 52
2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO.	Pág. 57
3. MATERIAL Y MÉTODOS.	Pág. 59
3.1. Muestras.	Pág. 59
3.2. Material y métodos.	Pág. 61
3.2.1. Extracción y cuantificación de la grasa total de suero sanguíneo.	Pág. 61
3.2.2. Extracción de la grasa total de las células sanguíneas.	Pág. 62
3.2.2.1. Separación de los fosfolípidos por cromatografía en capa fina.	Pág. 63
3.2.3. Obtención de los ésteres metílicos de los ácidos grasos.	Pág. 64
3.2.4. Separación y cuantificación mediante cromatografía de gases.	Pág. 65
3.2.4.1. Preparación de patrones.	Pág. 65
3.2.4.2. Desarrollo cromatográfico y cuantificación de los ácidos grasos.	Pág. 66
3.3. Estudio estadístico.	Pág. 73

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	Pág. 75
4.1. Valores de normalidad de los ácidos grasos comprendidos entre C6-C26 en muestras de suero y fosfolípidos de membrana.	Pág. 75
4.2. Correlación entre ácidos grasos en suero y en los fosfolípidos de membranas celulares.	Pág. 82
4.3. Evaluación niveles de ácidos grasos en suero y fosfolípidos de membrana en niños con sospecha de trastorno del metabolismo de ácidos grasos.	Pág. 97
4.4. Evaluación de las correlaciones entre los distintos ácidos grasos, en suero y fosfolípidos de membrana en los dos grupos analizados.	Pág.118
5. CONCLUSIONES.	Pág.133
6. BIBLIOGRAFÍA.	Pág.135

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS.

Figura 1. Estructura de los Acilgliceroles	Pág. 25
Figura 2. Esquema de la β -Oxidación de los ácidos grasos. Se producen tantos ciclos como fragmentos de 2 carbonos del ácido graso, menos uno, y en la última vuelta se producen 2 acetil-CoA.	Pág. 27
Figura 3. Biosíntesis de los ácidos grasos mediante el complejo multienzimático ácido graso sintasa. En cada vuelta el ácido graso resultante tiene 2 carbonos más que su predecesor, hasta llegar a palmitato. Hay que destacar que el alargamiento se produce por el carboxilo terminal.	Pág. 28
Figura 4. Reacciones de elongación e insaturación entre los ácidos grasos comunes.	Pág. 29
Figura 5. Estructura de los ácidos grasos esenciales n-6 y n-3 y sus derivados más importantes.	Pág. 30
Figura 6. Interconversión entre los ácidos grasos insaturados de las familias n-6 y n-3.	Pág. 31
Figura 7. Configuración cis y trans de un doble enlace.	Pág. 34
Figura 8. Elasticidad de los fosfolípidos con ácidos grasos poliinsaturados.	Pág. 39
Figura 9. Localización de los diferentes puntos en los que se puede producir el bloqueo en la degradación de ácidos grasos mediante la β oxidación mitocondrial.	Pág. 51
Figura 10. Etapas de la β -oxidación peroxisomal.	Pág. 55
Figura 11. Fotografía del sistema Shimadzu cromatográfico utilizado.	Pág. 66
Figura 12. Pantalla tipo del ordenador con las ventanas del programa en uso.	Pág. 70
Figura 13. Cromatograma total de los estándares.	Pág. 70
Figura 14. Secciones correspondientes a los ion-set 1 y 2 del cromatograma.	Pág. 71

Figura 15. Secciones correspondientes a los ion-set 3, 4 y 5 del cromatograma.	Pág. 72
Figura 16. Factores que pueden influir en la concentración de ácidos grasos en sangre y en fosfolípidos de membranas.	Pág. 81
Figura 17. Correlación entre C16 en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.	Pág. 89
Figura 18. Correlación entre C20:5n3 en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.	Pág. 91
Figura 19. Correlación entre la suma de ácidos grasos saturados en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.	Pág. 93
Figura 20. Correlación entre la suma de ácidos grasos insaturados en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.	Pág. 93
Figura 21. Correlación entre la suma de ácidos grasos saturados en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.	Pág. 94
Figura 22. Correlación entre la suma de ácidos grasos insaturados n-6 en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.	Pág. 94
Figura 23. Correlación entre la suma de ácidos grasos insaturados n-6 en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.	Pág. 95
Figura 24. Correlación entre el índice Sat/PUFA en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.	Pág. 96
Figura 25. Correlación entre el índice C16/C18:2 en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.	Pág. 96
Figura 26. Comparación entre las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de linoléico y araquidónico entre el grupo de sospecha de metabolopatía y el grupo control.	Pág. 106
Figura 27. Comparación entre las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de ácido linolénico, eicosapentanoico y docosahexanoico entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control.	Pág. 109
Figura 28. Comparación entre las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de los dos ácidos trans analizados entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control.	Pág. 111

Figura 29. Comparación entre las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de las sumas de ácidos grasos saturados e insaturados analizados entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control. Pág. 114

Figura 30. Comparación entre las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de las sumas de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA) analizados entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control. Pág. 114

Figura 31. Comparación entre las sumas de las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos de la familia n-6 y familia n-3 entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control. Pág. 115

Figura 32. Comparación del índice n6/n3 en suero y fosfolípidos de membrana entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control. Pág. 117

Figura 33. Comparación del índice C18:2n6/C20:4n6 en suero y fosfolípidos de membrana entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control. Pág. 117

Tabla 1. Fórmula empírica, nombre común y nomenclatura IUPAC de los ácidos grasos saturados presentes en la naturaleza. Pág. 23

Tabla 2. Fórmula empírica, nombre común y nomenclatura IUPAC de los ácidos grasos monoinsaturados presentes en la naturaleza. Pág. 24

Tabla 3. Fórmula empírica, nombre común y nomenclatura IUPAC de los ácidos grasos poliinsaturados n-6 presentes en la naturaleza. Pág. 24

Tabla 4. Fórmula empírica, nombre común y nomenclatura IUPAC de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 presentes en la naturaleza. Pág. 25

Tabla 5. Alteraciones de los ácidos grasos en cada uno de los tipos de enfermedades asociadas a la β -oxidación mitocondrial. Pág. 52

Tabla 6. Funciones bioquímicas del peroxisoma. Pág. 53

Tabla 7. Grupos de enfermedades del peroxisoma. Pág. 53

Tabla 8. Distribución de las muestras analizadas. Pág. 60

Tabla 9. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos saturados en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n= 33). Pág. 76

Tabla 10. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos monoinsaturados en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=33).	Pág. 77
Tabla 11. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos insaturados n-6 en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n= 33).	Pág. 78
Tabla 12. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos insaturados n-3 en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=33).	Pág. 79
Tabla 13. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos trans en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=33).	Pág. 79
Tabla 14. Sumas de las concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos por grupos en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=35).	Pág. 80
Tabla 15. Índices entre los ácidos grasos en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=35). (SFA: saturados; MUFA: monoinsaturados; PUFA: poliinsaturados).	Pág. 81
Tabla 16. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos monoinsaturados en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 83
Tabla 17. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos monoinsaturados en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 83
Tabla 18. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos insaturados n-6 en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 84
Tabla 19. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos insaturados n-3 en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 85
Tabla 20. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos trans en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 85
Tabla 21. Sumas de las concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos por grupos en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 86
Tabla 22. Índices entre los ácidos grasos en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=350).	Pág. 87
Tabla 23. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos saturados en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 88
Tabla 24. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos grasos monoinsaturados en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 89
Tabla 25. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los	

ácidos grasos insaturados n-6 en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 90
Tabla 26. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos grasos insaturados n-3 en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 90
Tabla 27. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos grasos trans en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 91
Tabla 28. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de las sumas de las concentraciones de los ácidos grasos por grupos en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 92
Tabla 29. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los índices de los grupos de ácidos grasos en el total de la muestra (n= 350).	Pág. 95
Tabla 30. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control y grupo sospecha según test de Kolmogorov-Smirnov de los ácidos grasos saturados (n, distribución normal; nn distribución no normal).	Pág. 98
Tabla 31. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control y grupo sospecha según test de Kolmogorov-Smirnov de los ácidos grasos monoinsaturados (n, distribución normal; nn distribución no normal).	Pág. 99
Tabla 32. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control y grupo sospecha según test de Kolmogorov-Smirnov de los ácidos grasos insaturados n-6 (n, distribución normal; nn distribución no normal).	Pág. 99
Tabla 33. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control según test de Kolmogorov-Smirnov de los ácidos grasos insaturados n-3 (n, distribución normal; nn distribución no normal).	Pág. 100
Tabla 34. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control según test de Kolmogorov-Smirnov de los ácidos grasos trans (n, distribución normal; nn distribución no normal).	Pág. 101
Tabla 35. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control según test de Kolmogorov-Smirnov de los grupos de ácidos grasos (n, distribución normal; nn distribución no normal).	Pág. 101
Tabla 36. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control según test de Kolmogorov-Smirnov de los índices de ácidos grasos (n, distribución normal; nn distribución no normal).	Pág. 102
Tabla 37. Concentraciones (% p/p)(media, SD) de los ácidos grasos	

saturados en suero y fosfolípidos de membrana del grupo de pacientes con sospecha de metabolopatía (SM) (n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo control mediante el test U de Mann-Whitney. Pág. 103

Tabla 38. Concentraciones (% p/p)(media, SD) de los ácidos grasos monoinsaturados en suero y fosfolípidos de membrana del grupo de pacientes con sospecha de metabolopatía (SM)(n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo control mediante el test U de Mann-Whitney. Pág. 104

Tabla 39. Concentraciones (% p/p)(media, SD) de los ácidos grasos insaturados n-6 en suero y fosfolípidos de membrana del grupo de pacientes con sospecha de metabolopatía (SM)(n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo control mediante el test U de Mann-Whitney. Pág. 105

Tabla 40. Concentraciones (% p/p)(media, SD) de los ácidos grasos insaturados n-3 en suero y fosfolípidos de membrana del grupo de pacientes con sospecha de metabolopatía (n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo control mediante el test U de Mann-Whitney. Pág. 108

Tabla 41. Concentraciones (% p/p)(media, SD) de los ácidos grasos trans en suero y fosfolípidos de membrana del grupo de pacientes con sospecha de metabolopatía (n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo control mediante el test U de Mann-Whitney. Pág. 111

Tabla 42. Sumas de las concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos por grupos en suero y fosfolípidos de membrana de pacientes con sospecha de metabolopatía (n=374). Test U de Mann-Whitney. Pág. 113

Tabla 43. Índices entre los ácidos grasos en suero y fosfolípidos de membrana de pacientes con sospecha de metabolopatía (n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo normal. Pág. 116

Tabla 44. Correlaciones entre el C6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 119

Tabla 45. Correlaciones entre el C8 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 119

Tabla 46. Correlaciones entre el C10 y los demás ácidos grasos en los

diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 120

Tabla 47. Correlaciones entre el C12 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 120

Tabla 48. Correlaciones entre el C12:1 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 121

Tabla 49. Correlaciones entre el C14 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 121

Tabla 50. Correlaciones entre el C14:1n5 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 121

Tabla 51. Correlaciones entre el C16 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 122

Tabla 52. Correlaciones entre el C18 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 122

Tabla 53. Correlaciones entre el C18:1n9 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 123

Tabla 54. Correlaciones entre el tC18:1n9 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 123

Tabla 55. Correlaciones entre el tC18:2n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 123

Tabla 56. Correlaciones entre el C18:3n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 124

Tabla 57. Correlaciones entre el C18:3n3 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 124

Tabla 58. Correlaciones entre el 20 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 124

Tabla 59. Correlaciones entre el C20:1n15 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 125

Tabla 60. Correlaciones entre el C20:1n9 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 125

Tabla 61. Correlaciones entre el C20:2n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 125

Tabla 62. Correlaciones entre el C20:4n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 126

Tabla 63. Correlaciones entre el C20:3n3 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 126

Tabla 64. Correlaciones entre el C20:5n3 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 126

Tabla 65. Correlaciones entre el C22 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 127

Tabla 66. Correlaciones entre el C22:2n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 127

Tabla 67. Correlaciones entre el C22:4n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con

- valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 127
- Tabla 68. Correlaciones entre el C22:3n3 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 128
- Tabla 69. Correlaciones entre el C24 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,5$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 128
- Tabla 70. Correlaciones entre el C22:6n3 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,5$ y con significación $p < 0,01$. Pág. 128
- Tabla 71. Correlaciones entre las sumas de ácidos grasos en el grupo de sueros control. * $p < 0,06$ y ** $p < 0,01$. Pág. 130
- Tabla 72. Correlaciones entre las sumas de ácidos grasos en el grupo de sueros problema. * $p < 0,06$ y ** $p < 0,01$. Pág. 130
- Tabla 73. Correlaciones entre las sumas de ácidos grasos en el grupo de fosfolípidos de membrana control. * $p < 0,06$ y ** $p < 0,01$. Pág. 131
- Tabla 74. Correlaciones entre las sumas de ácidos grasos en el grupo de fosfolípidos de membrana problema. * $p < 0,06$ y ** $p < 0,01$. Pág. 131
- Tabla 75. Correlaciones entre las proporciones de cada ácido graso en suero frente a las de los ácidos grasos en fosfolípidos de membrana. Pág. 132



1. INTRODUCCIÓN.

Los ácidos grasos, componentes mayoritarios de las moléculas lipídicas, tienen dos funciones generales en los seres vivos: una función de almacenamiento energético y una función estructural, además de algunas funciones específicas. No se encuentran en forma libre, su presencia en los seres vivos es formando parte de biomoléculas en las que están esterificados, únicamente en procesos metabólicos y durante tiempos cortos permanecen en forma de ácidos grasos libres.

La grasa de depósito, utilizada como almacén energético y principalmente distribuida en el tejido adiposo, está compuesta mayoritariamente por triglicéridos, moléculas formadas por tres ácidos grasos unidos a una molécula de glicerol. La naturaleza hidrofóbica de los triacilgliceroles y su estado relativamente reducido los transforman en compuestos eficientes para el almacenamiento de energía. En primer lugar, a igualdad de peso, la cantidad de ATP que se obtiene de la oxidación completa de los triacilgliceroles es dos veces y media superior a la correspondiente al glucógeno. En segundo lugar, los triacilgliceroles se pueden almacenar como lípido puro sin asociarse con el agua, mientras que el glucógeno es muy hidrofílico y cuando se almacena en los tejidos fija el doble de su peso de agua.

En su función estructural, forma parte de los fosfolípidos de membrana, que junto con proteínas son los componentes más abundantes de la misma. Cada célula se encuentra rodeada por una membrana plasmática que la rodea, le da forma, es específica de sus funciones y la relaciona con el medio extracelular. Actúa como una barrera de permeabilidad que permite a la célula mantener una composición citoplasmática distinta de la del medio extracelular. Contiene enzimas, receptores y antígenos que desempeñan un papel central en la interacción de la célula con otras células, así como con las hormonas y otros agentes reguladores presentes en el líquido extracelular. Los fosfolípidos presentan una cabeza polar y dos cadenas hidrofóbicas, constituidas por ácidos grasos con unas propiedades físico-químicas concretas que transfiere a dicha membrana. Según cuál sea el componente que predomine, la membrana será más o menos fluida, más o menos permeable a determinadas sustancias. Es importante el porcentaje en el que cada ácido graso se halla en la membrana, porcentaje que puede estar determinado genéticamente y en gran medida de la dieta.

Una de las propiedades más prominentes y significativas de los ácidos grasos y de los lípidos es su falta de afinidad por el agua. Este carácter hidrofóbico es esencial para la construcción de las complejas estructuras biológicas, para la separación del entorno acuoso y para constituir un buen depósito energético.

1.1. ÁCIDOS GRASOS.

Los ácidos grasos constan de una cadena alquílica con un grupo carboxílico terminal siendo la configuración más sencilla la de una cadena lineal completamente saturada. La fórmula básica es $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, siendo los ácidos grasos más comunes de los sistemas biológicos los que tienen un número par de átomos de carbono. Los ácidos grasos de importancia para los humanos tienen configuraciones relativamente sencillas, aparecen comúnmente insaturaciones con hasta seis dobles enlaces por cadena. La mayor parte de los ácidos grasos del cuerpo humano tienen 16, 18 ó 20 átomos de carbono, si bien hay varios con cadenas más largas que se encuentran principalmente en los lípidos del sistema nervioso.

En la tabla siguiente figuran los ácidos grasos presentes en la naturaleza con sus nombres comunes y sistemáticos (IUPAC):

Tabla 1. Fórmula empírica, nombre común y nomenclatura IUPAC de los ácidos grasos saturados presentes en la naturaleza.

Nº	Fórmula empírica	IUPAC	Nombre común
C8	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_6-\text{COOH}$	Octanoico	Caprílico
C10	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_8-\text{COOH}$	Decanoico	Cáprico
C12	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{COOH}$	Dodecanoico	Láurico
C14	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{12}-\text{COOH}$	Tetradecanoico	Mirístico
C16	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$	Hexadecanoico	Palmítico
C18	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$	Octadecanoico	Esteárico
C20	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{18}-\text{COOH}$	Eicosanoico	Araquídico
C22	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{20}-\text{COOH}$	Docosanoico	Behénico
C24	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{22}-\text{COOH}$	Tetracosanoico	Lignocérico
C26	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{24}-\text{COOH}$	Hexacosanoico	Cerótico

Para los ácidos grasos insaturados se ha escogido la numeración desde el metilo (carbono ω o n), no confundir con la numeración de la IUPAC que inicia a contar desde el carboxilo. En el caso de los ácidos grasos es más útil la numeración desde el carbono n, al clasificarlos por familias de insaturados, cuyas elongaciones, desaturaciones y degradaciones están ligadas.

Tabla 2. Fórmula empírica, nombre común y nomenclatura IUPAC de los ácidos grasos monoinsaturados presentes en la naturaleza.

Nº	Fórmula empírica	IUPAC	Nombre común
C14:1n5	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_7\text{-COOH}$	Cis-9-Tetradecenoico	Miristoleico
C16:1n7	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_5\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_7\text{-COOH}$	Cis-9-Hexadecenoico	Palmitoleico
C18:1n9	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_7\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_7\text{-COOH}$	Cis-9-Octadecenoico	Oleico
tC18:1n9	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_7\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_7\text{-COOH}$	Trans-9-Octadecenoico	Elaídico
C20:1n15	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{13}\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_3\text{-COOH}$	Cis-5-Eicosenoico	
C20:1n9	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_7\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_9\text{-COOH}$	Cis-11-Eicosenoico	Gondoico
C22:1n9	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_7\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_{11}\text{-COOH}$	Cis-13-Docosenoico	Erúcico
C24:1n9	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_7\text{-CH=CH-(CH}_2\text{)}_{13}\text{-COOH}$	Cis-15-Tetracosenoico	Nervónico

Tabla 3. Fórmula empírica, nombre común y nomenclatura IUPAC de los ácidos grasos poliinsaturados n-6 presentes en la naturaleza.

Nº	Fórmula empírica	IUPAC	Nombre común
C18:2n6	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_6\text{-COOH}$	Cis-9,12-Octadecadienoico	Linoleico
C18:3n6	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_3\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-COOH}$	Cis-6,9,12-Octadecatrienoico	γ -Linolénico
C20:2n6	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_8\text{-COOH}$	Cis-11,14-Eicosadienoico	
C20:3n6	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_3\text{-(CH}_2\text{)}_5\text{-COOH}$	Cis-8,11,14-Eicosatrienoico	
C20:4n6	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_4\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-COOH}$	Cis-5,8,11,14-Eicosatetraenoico	Araquidónico
C22:2n6	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_2\text{-(CH}_2\text{)}_{10}\text{-COOH}$	Cis-13,16-Docosadienoico	
C22:4n6	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-(CH=CH-CH}_2\text{)}_4\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-COOH}$	Cis-7,10,13,16-Docosatetraenoico	

Tabla 4. Fórmula empírica, nombre común y nomenclatura IUPAC de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 presentes en la naturaleza.

Nº	Fórmula empírica	IUPAC	Nombre común
C18:3n3	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₃ -(CH ₂) ₆ -COOH	Cis-9,12,15-Octadecatrienoico	Linolénico
C20:3n3	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₃ -(CH ₂) ₈ -COOH	Cis-11,14,17- Eicosatrienoico	
C20:5n3	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₅ -(CH ₂) ₂ -COOH	Cis-5,8,11,14,17-Eicosapentanoico	Eicosapentanoico
C22:3n3	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₃ -(CH ₂) ₁₀ -COOH	Cis-13,16,19-Docosatrienoico	
C22:6n3	CH ₃ -CH ₂ -(CH=CH-CH ₂) ₆ -CH ₂ -COOH	Cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoico	Docosahexaenoico

Los ácidos grasos se encuentran principalmente en forma de ésteres del glicerol, como se muestra en la figura:

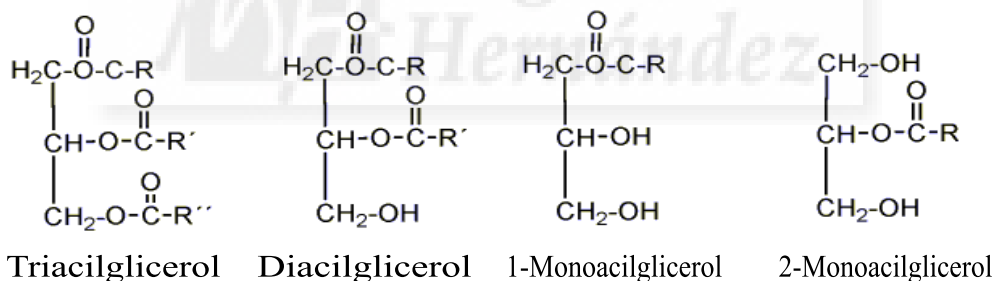


Figura 1. Estructura de los Acilgliceroles.

Los ácidos grasos libres, así como los compuestos con un ácido graso esterificado (monoacilgliceroles) o dos (diacilgliceroles) se encuentran solamente en cantidades relativamente pequeñas y aparecen en gran medida como intermediarios metabólicos en la biosíntesis y degradación. La mayor parte de los ácidos grasos del cuerpo humano existen en forma de triacilgliceroles en los que los tres grupos hidroxilo del glicerol están esterificados con un ácido graso, denominados históricamente grasas neutras o triglicéridos y fosfolípidos en los que el tercer hidroxilo está esterificado con fosfato.

1.2. METABOLISMO ÁCIDOS GRASOS.

Una gran proporción de los ácidos grasos utilizados por el hombre se obtiene de la dieta. Diversos lípidos animales y vegetales son ingeridos, hidrolizados, al menos parcialmente por enzimas digestivos, y absorbidos a través de la pared intestinal, mediante su emulsión mediante los ácidos biliares, y distribuidos a través del cuerpo, primero en el sistema linfático y después en el torrente circulatorio (Palou, 2008). Los procesos metabólicos que tienen lugar en los tejidos del cuerpo humano normal pueden modificar los ácidos grasos de la dieta y/o los que son sintetizados en dichos tejidos para producir casi todas las estructuras requeridas.

El hombre utiliza dos tipos de vehículos para transportar los ácidos grasos entre los distintos órganos:

- Los quilomicrones y otras lipoproteínas plasmáticas en los que los triacilgliceroles son transportados junto con otros lípidos en gotículas de lípidos recubiertos por proteína. Las lipoproteínas plasmáticas se sintetizan en el intestino y en el hígado, y son un grupo heterogéneo de complementos lípido-proteína compuesto por diversos tipos de lípidos y apoproteínas. Las dos categorías más importantes para el transporte de los lípidos son los quilomicrones y las VLDL, ya que ambas contienen una cantidad relativamente elevada de triacilgliceroles.

- Ácidos grasos unidos a la albúmina sérica. La albúmina sérica actúa como transportador de una serie de sustancias en la sangre, siendo los ácidos grasos algunas de las más importantes. Estos ácidos son insolubles en agua, cuando se liberan al plasma durante la hidrólisis de los triacilgliceroles se unen rápidamente a la albúmina. Esta proteína tiene diversos centros de fijación para los ácidos grasos, dos de los cuales, son de alta afinidad.

Los lípidos ligados a las lipoproteínas o los ácidos grasos unidos a la albúmina son captados fácilmente por los tejidos para su almacenamiento, transformación en otros ácidos grasos o su oxidación y producción de ATP. La energía de los ácidos grasos almacenados o circulantes en forma de triacilgliceroles no es asequible directamente,

sino que estos últimos compuestos han de hidrolizarse enzimáticamente para liberar los ácidos grasos y el glicerol. Los ácidos grasos para su degradación o inclusión en una molécula se activan previamente a acil-CoA.

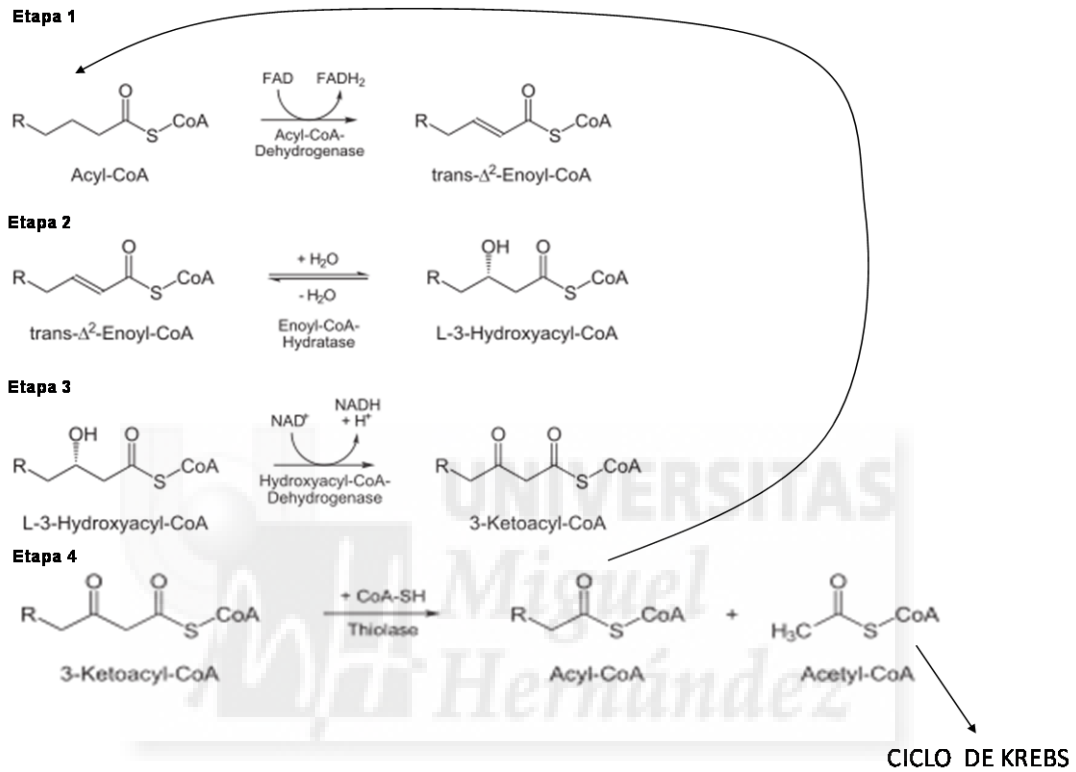


Figura 2. Esquema de la β -Oxidación de los ácidos grasos. Se producen tantos ciclos como fragmentos de 2 carbonos del ácido graso, menos uno, y en la última vuelta se producen 2 acetil-CoA.

Además del suministro alimenticio, la segunda fuente principal de ácidos grasos en los humanos es su biosíntesis a partir de intermediarios de pequeño tamaño los cuales pueden provenir de la degradación de azúcares, de algunos aminoácidos y de otros ácidos grasos. En la mayor parte de casos se sintetiza en primer lugar el ácido palmítico, ácido saturado de cadena lineal de 16 carbonos obteniéndose los demás ácidos grasos mediante modificaciones del ácido palmítico. El acetil CoA es la fuente directa de todos los átomos de carbono para su síntesis obteniéndose los ácidos grasos mediante adición secuencial de unidades de dos carbonos al extremo carboxilo activado de cadena creciente. La biosíntesis ocurre en el citosol catalizada por el complejo

multienzimático dimérico con siete actividades enzimáticas: acetil-CoA-ACP transacetilasa; malonil-CoA-ACP transferasa; β -cetiolasa; β -hidroxiacil CoA deshidrogenasa; enoil CoA hidratasa; enoil CoA reductasa; en el centro del complejo está la proteína portadora de acilos (ACP); y la actividad hidrolítica que escinde el ácido palmítico en la última vuelta de la proteína central portadora de acilos. En esquema la secuencia de reacciones está representada en la figura 3:

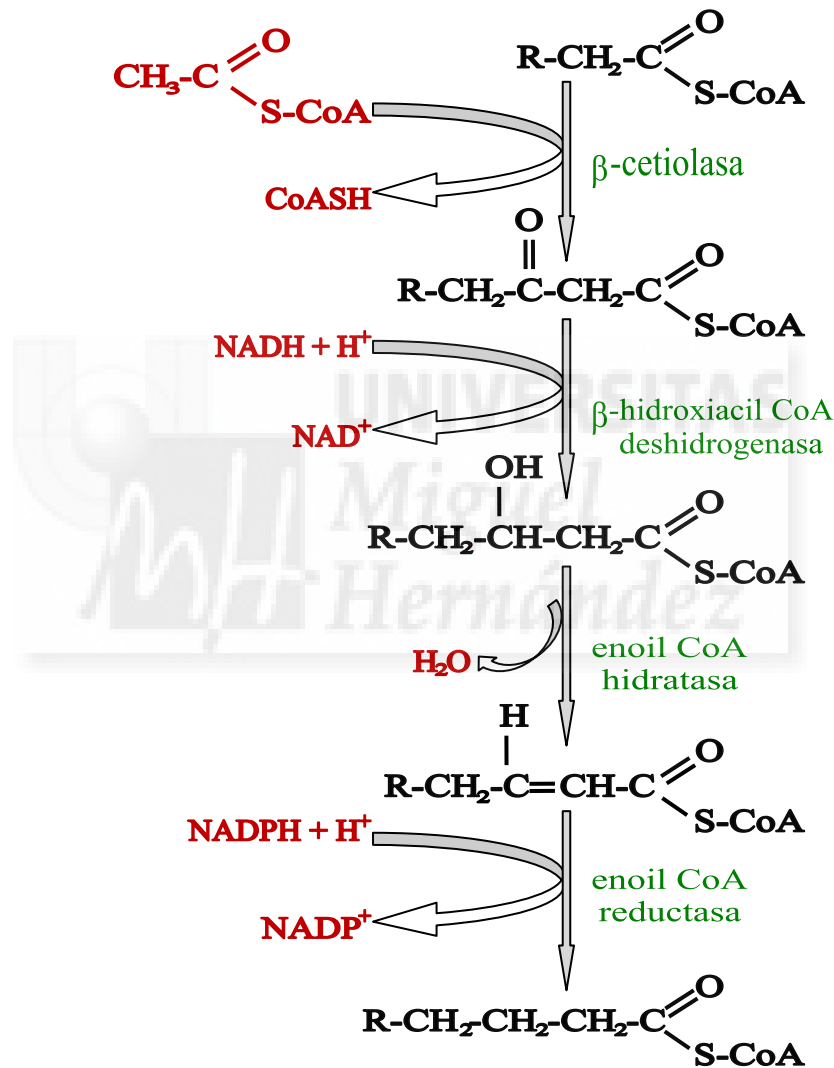


Figura 3. Biosíntesis de los ácidos grasos mediante el complejo multienzimático ácido graso sintasa. En cada vuelta el ácido graso resultante tiene 2 carbonos más que su predecesor, hasta llegar a palmitato. Hay que destacar que el alargamiento se produce por el carboxilo terminal.

Los ácidos grasos de cadena larga se sintetizan a partir del palmítico. Este alargamiento se produce en el retículo endoplasmático liso y en la mitocondria mediante un proceso semejante a una vuelta del proceso de biosíntesis. El sistema de alargamiento que tiene lugar en la mitocondria funciona sencillamente invirtiendo la ruta β -oxidación de los ácidos grasos, a excepción de que la enoil CoA reductasa ligada a NADPH (último paso del alargamiento) sustituye a la acil CoA deshidrogenasa ligada a FAD (primer paso de la β -oxidación) (Figura 3).

La formación de dobles enlaces se produce por una reacción oxidativa catalizada por la acil-CoA desaturasa, oxidasa mixta con dos sustratos el ácido graso y el NADPH. Esta enzima no puede actuar entre carbonos más cercanos de metilo de la posición 9 y crea el enlace en la forma isomérica cis. Un esquema de posibles intercambios entre los ácidos grasos más comunes se presenta en la figura 4:



Figura 4. Reacciones de elongación e insaturación entre los ácidos grasos comunes.

Ácidos grasos de menor número de carbonos de 16 saturados y monoinsaturados pueden producirse mediante oxidación parcial en la β -oxidación.

1.3. ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES.

Los mamíferos superiores, entre ellos el hombre, son incapaces de producir ciertos ácidos grasos poliinsaturados, los cuales a pesar de esta incapacidad de ser sintetizados, son esenciales para algunas funciones específicas. Los ácidos grasos esenciales (AGE), son sustancias críticas en la nutrición ya que el metabolismo de los seres humanos los requiere y no pueden ser sintetizados en el organismo. Estos poseen un doble enlace en posición 6 o en posición 3 en el extremo contrario al carboxilo. El hombre es incapaz de producir una desaturación en dichas posiciones. Sí puede metabolizarlos mediante elongación y desaturación en otras posiciones. Investigaciones recientes han demostrado que más del 25% de los adultos y un porcentaje similar en niños presentan anomalías de los AGE debido a que las fuentes dietéticas de estos ácidos grasos esenciales son insuficientes (Martínez, 2001; MERCASA, 2009). Los alimentos procesados han destruido la mayoría de los AGE.

El ácido linoleico (LA, 18:2n-6) y el ácido α -linolenico (ALA, 18:3n-3) son ácidos grasos esenciales; esto es, que no pueden ser sintetizados por el ser humano ya que carece de enzimas capaces de sintetizar estos ácidos grasos desde acetilCoA, y deben ser provistos por la dieta.

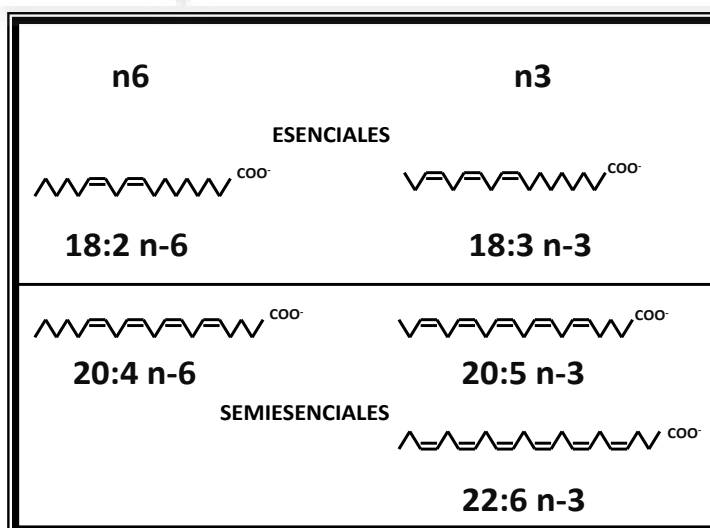


Figura 5. Estructura de los ácidos grasos esenciales n-6 y n-3 y sus derivados más importantes.

Compiten por el mismo sistema enzimático para la desaturación-elongación de

su cadena carbonada y son precursores de los ácidos grasos de cadena larga (LC-PUFA), de las series n-6 y n-3 (semiesenciales), dihomo- γ -linoleico (DHGLA, 20:3n-6), ácido araquidónico (ARA, 20:4n-6), ácido docosatetraenoico (DTA, 22:4n-6), ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3), ácido docosapentaenoico (DPA, 22:5n-3), y ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3). (Brett, 2001)

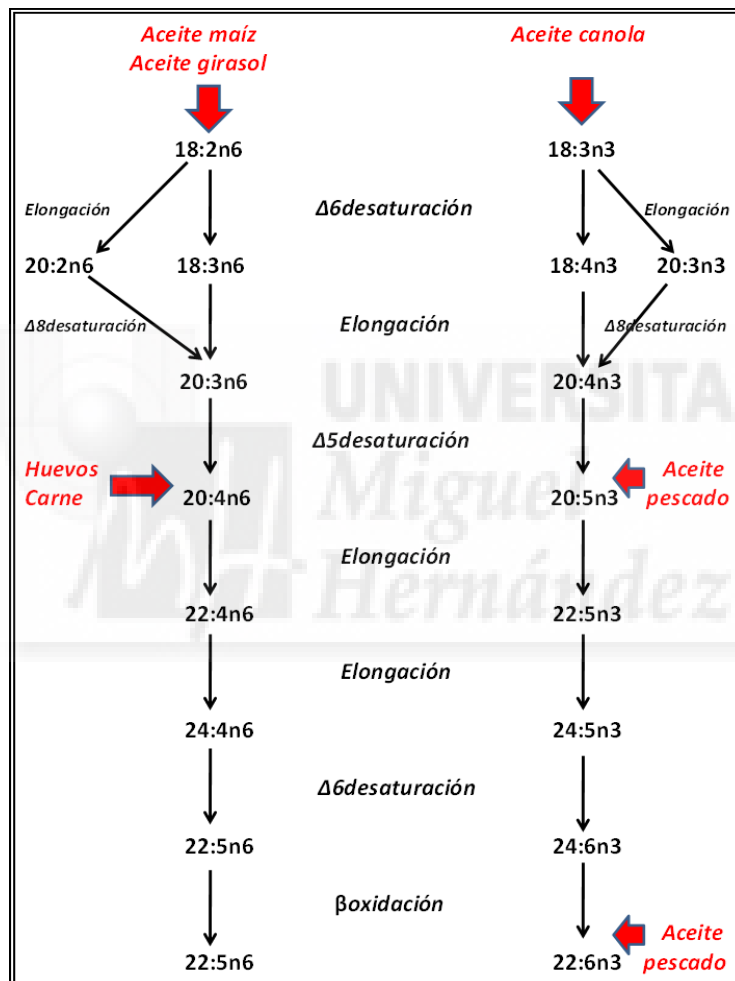


Figura 6. Interconversión entre los ácidos grasos insaturados de las familias n-6 y n-3.

El metabolismo de los ácidos poliinsaturados (PUFA), es una alternancia de pasos entre desaturación y elongación. El último de ellos daría lugar a la síntesis de 22:5n-6/22:6n-3, a través de una elongación y una Δ6-desaturación y una β-oxidación. Recientemente, se ha sugerido que los recién nacidos tienen un sistema metabólico

inmaduro y que utilizan una vía alternativa: elongación de LA (y ALA), dando lugar a 20:2n-6 (y 20:3n-3) y posterior $\Delta 8$ desaturación, dando lugar a DHGLA (y 20:4n-3). (Dunchén, 2001)

Las enzimas encargadas de este metabolismo se encuentran repartidas por todo el organismo, incluido el cerebro. También se sabe que la introducción en la dieta, tanto del precursor 18:2n-6, como de ácidos poliinsaturados disminuyen la actividad de la enzima $\Delta 6$ desaturasa. Esta regulación feedback se produce también cuando se introduce ácido oleico.

Los ácidos grasos n-3 y n-6, ambos esenciales, no pueden interconvertirse entre ellos, es más en muchos procesos tienen un efecto combinado en múltiples sistemas (prevención enfermedades cardiovasculares), y en algunos casos su función es antagonista (enfermedades inmunitarias, inflamatorias, etc), se hace necesario mantener una dieta equilibrada entre ambos tipos de ácidos grasos para mantener el estado de salud (Palou, 2008). Diferentes relaciones n-6/n-3 se han mostrado eficaces en el tratamiento de diversas patologías, no estando bien definida la proporción idónea, pero siendo la adecuada entre 4/1 a 2/1, proporciones en las que se ha visto un descenso de la tasa de mortalidad por enfermedad cardiovascular, disminución proliferación celular en cáncer colorectal y reducción de la inflamación en artritis reumatoide, entre otras (Simopoulos, 2006). Proporción alejada de las dietas actuales de los países occidentales, con cantidades relativas muy altas de n-6 (Palou, 2008; Carrillo, 2011).

En un estudio realizado en hígado de rata con una dieta deficiente en ácidos grasos n-3, se encontró una cantidad mayor significativa de 22:6n-3 que la encontrada con dietas enriquecidas en DHA. Se sugiere que una cantidad significativa de 22:6n-3 de la dieta fue degradada vía Δ -oxidación, y una porción de 20:5n-3 fue reciclado para la síntesis de 22:6n-3 (Kanazawa, 1997).

Otros estudios muestran que sólo un pequeño porcentaje de los ácidos grasos precursores de la dieta llegan a convertirse en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Así, la suplementación dietética de PUFA podría ser necesaria en estadios tempranos de desarrollo (Dunchén, 2001).

El papel que juega el ácido docosahexaenoico es esencial en el desarrollo del sistema nervioso central. Esto sugirió que podría ser útil un enriquecimiento de la leche materna en dicho ácido. Incluso una suplementación durante un corto período de tiempo (2-4 meses) puede tener beneficios a largo plazo (12 meses).

Dietas deficientes en ácido linoleico o cambios significativos en γ -linolénico, inducen a cambios en la composición de membranas neuronales y células gliales. Estos cambios, producen a su vez, alteraciones en la función de dichas células en retina y cerebro. Estos efectos funcionales serían consecuencia de la modificación del contenido de PUFA en la membrana celular, lo que incluye modificaciones en su fluidez y en las actividades asociadas a la membrana y a la función de sus proteínas (transporte, receptor, enzimas), y a la producción de importantes señales moleculares (como las producidas por ácido linoleico oxigenado y derivados de γ -linolénico) (Farooqui, 2011).

Debido a las propiedades de estos ácidos poliinsaturados, intervienen en distintas actividades fisiológicas. Así, hay estudios que muestran su actividad anticonvulsivante y antiarrítmica, en corazón y cerebro (Chung, 2008; Jackson, 2007) Tienen un importante papel en la inflamación y regulación de la inmunidad (Calder, 2001; Gomes, 2010). Intervienen en el crecimiento infantil por su efecto sobre la transcripción genética (Lapillonne, 2001). Influyen en la fluidez de la membrana en células endoteliales (Hashimoto a, 1999), y en la función cognitiva (Hashimoto b, 2011). Hay evidencias de que han podido influir en la evolución del cerebro del homínido moderno (Levant, 2006). Protege el desarrollo mitocondrial en la apoptosis de retina (Politi, 2001), actúa en la agudeza visual (Jeffrey, 2002). Su deficiencia puede provocar desórdenes en el comportamiento infantil, como muerte súbita, dislexia o esquizofrenia (Colombo, 2001). Interviene en la neurotransmisión cerebral y por lo tanto afecta a la función cerebral (Chalon, 2001)

La fuente es claramente dietética, así, en un estudio realizado en madres lactantes de diferentes países, se les suministraron 1080 mg/día de EPA, 720 mg/día de DHA y 6 mg/día de vitamina E, de aceite de pescado. El porcentaje de EPA se incrementó hasta 6 veces en la leche y en los eritrocitos maternos y de los lactantes. El DHA se incrementó un 25% en ambos tipos de eritrocitos, pero sólo se doblaron en la leche. Posiblemente, estos dos ácidos grasos n-3, desplazan ácidos saturados de los

fosfolípidos (Fernstrom, 1999). Y únicamente con la ingesta de dos raciones de pescado a la semana durante la gestación, la leche materna presentó niveles significativamente mayores de Eicosapentanoico (EPA) y Docosahexanoico (DHA) (Moya, 2001).

1.4. ÁCIDOS GRASOS TRANS.

Con la alimentación se incorporan tres tipos de ácidos grasos: saturados, monoinsaturados, con un doble enlace en su molécula, y poliinsaturados, con más de un doble enlace. El número, la localización y la geometría de los dobles enlaces de estos ácidos grasos tienen un profundo efecto sobre los niveles de lípidos plasmáticos. A estos se debe agregar un cuarto grupo que ha demostrado tener efecto sobre la colesterolemia y el metabolismo celular: Los isómeros trans de los ácidos grasos (AGT), con al menos un doble enlace en configuración trans. Estos últimos, tienen efecto similar al de los ácidos grasos saturados (Katan, 1995; Carrillo, 2011). Producen variaciones en la actividad de enzimas relacionadas con el metabolismo de los ácidos grasos esenciales.

La cantidad específica de cada AG presente en la grasa determina si ésta es sólida o líquida. Los ácidos grasos saturados (AGS), presentes en la carne de vacuno, forman alimentos sólidos a temperatura ambiente porque sus moléculas son lineales y las uniones entre moléculas son más estables y compactas. En efecto, en el doble enlace de un AGT, los dos átomos de Hidrógeno están situados en lados opuestos de la cadena de carbono.

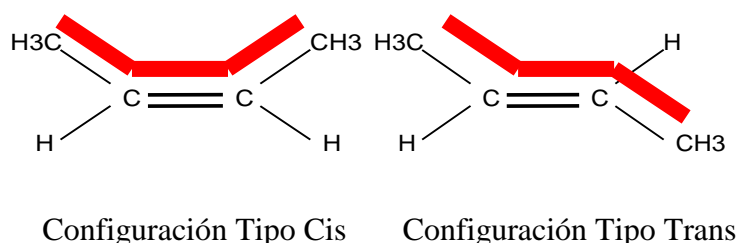


Figura 7. Configuración cis y trans de un doble enlace.

En contraste con la configuración cis, en la configuración trans el ángulo del doble enlace es más pequeño y la cadena carbonada es más lineal, resultando una

molécula más rígida, con un punto de fusión más alto. En la configuración cis, los átomos de hidrógeno, están en el mismo lado de la cadena de carbono, formando un pliegue y resultando una molécula más flexible. Así, el ácido oleico (18:1n-9) funde a 13°C y su isómero trans, el ácido elaídico (t18:1n-9) funde a 44°C; el ácido esteárico (18:0), que es saturado funde a 72°C. La estructura espacial de los AGT está entre los AGS y los ácidos grasos insaturados (AGI) con configuración cis. Los ácidos grasos mono-insaturados (AGMI), abundantes en el aceite de oliva, son líquidos a temperatura ambiente, pero sólidos a temperaturas refrigeradas. Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), como los presentes en los aceites de semillas, tienen 2 o más curvas en su estructura y permanecen líquidos incluso cuando son refrigerados, disminuyendo su punto de fusión con el número de dobles enlaces.

Las curvaturas en la estructura molecular de los ácidos grasos mono y poli-insaturados pueden alterarse a través del proceso de cocinado o la hidrogenación. La hidrogenación es un proceso que transforma un aceite líquido en un aceite sólido más estable, menos susceptible de descomponerse. En este proceso, usando presión, temperatura y un metal catalizador (frecuentemente, el níquel), gas hidrógeno es burbujado a través de un aceite líquido. Se saturan parte de los dobles enlaces presentes en los ácidos grasos y otra parte cambian su configuración cis por trans. También puede ocurrir que el doble enlace cambie su posición dentro de la misma molécula.

La acción de los ácidos grasos trans (AGT) es similar a la de los saturados procedentes de grasas sólidas, afectando a la fluidez de las membranas. Así, en las membranas celulares con un alto contenido en AGT, los fosfolípidos de membrana forman paquetes más rígidos, debido a una interacción hidrofóbica de unas cadenas con otras. Contrario a esto, el doble enlace cis posee una curva con un ángulo de 30° en la cadena carbonada, que impide esta interacción de unas cadenas con otras, lo que produce un aumento significativo en la fluidez de la membrana (Cevc, 1991).

Los ácidos grasos trans pueden provenir de dos fuentes principales en la dieta humana: la biohidrogenación en el intestino de los rumiantes y por otra parte, la hidrogenación comercial de aceites vegetales y de origen marino para dar margarinas y grasas, utilizadas en bollería industrial y comida preelaborada a altas temperaturas, y

que contienen una cantidad variable de ácidos grasos trans, del orden del 40-50% del total de su materia grasa. Estos productos comerciales son las mayores fuentes de AGT en la dieta. El promedio de su consumo en USA se ha calculado en 7-8 g diarios (Hunter, 1991; Castro-Martínez, 2010)

Otros autores consideran que es de 13,3 g/día (Enig, 1990). En Alemania, el consumo es de 3,4 g/día para las mujeres y 4,1 g/día para los hombres (Steinhart, 1992). En la población de Escocia, se ha determinado que es de 7 g/día (Bolton, 1995). España posee uno de los valores más bajos, con 2,4 g/día.

La composición de AGT en el tejido adiposo viene a reflejar el tipo de grasa en la dieta. Así, Chen et al. (Chen, 1995) encontró que la distribución del isómero t18:1 en el tejido adiposo en Canadá era similar a los de los aceites vegetales parcialmente hidrogenados, y distintos de los de la manteca, indicando que esos aceites eran la fuente dominante de AGT en la dieta. Uno de los estudios más exhaustivos sobre este tema es el estudio EURAMIC (Aro, 1995), en el cual se determina el ácido t18:1 en tejido adiposo en hombres y mujeres postmenopáusicas de países europeos, observando un gradiente que va desde el norte de Europa al Mediterráneo y que confirma que la dieta española contiene menor cantidad de AGT (2,3% en Alemania hasta un 0,43% en España). También en muestras de leche materna, la distribución de los distintos isómeros trans, parece reflejar la fuente predominante de AGT en su dieta. La presencia de una cantidad relativamente grande de ácido vaccénico (trans-11 18:1) y la cantidad relativa de trans-16 18:1, indica que la leche y otros productos lácteos son la mayor fuente de AGT en la dieta materna, como ocurre en Francia (Chardigny, 1995), (Wolff, 1995). Por otro lado, una distribución más equitativa de trans-11 18:1 y trans-10 18:1 indica que los AGT en la dieta materna derivan principalmente de grasas comercialmente hidrogenadas, como ocurre en Canadá (Chen, 1995).

Por otra parte, la sensibilidad de los aceites vegetales ante el tratamiento térmico varía notablemente con la composición en AG de los mismos. Así, en el aceite de girasol (86% insaturados) el calentamiento a 240°C (temperatura de fritura) durante 2h, produce 5% de isómeros trans, mientras que el aceite de palma (50% insaturados), el mismo tratamiento produce 0,3% de estos isómeros. Como resultado de la biohidrogenación, la carne que proviene de animales rumiantes, contiene del orden de 1

a 8% del total de su grasa, en forma de AGT.

Algunas de las alteraciones de procesos metabólicos que han podido demostrarse por parte de AGT son: disminución de la función mitocondrial, inhibición de la glucólisis, estimulación de la lipogénesis en adipocitos, alteración de los receptores LDL, estímulo de la agregación plaquetaria, aumento de la cetogénesis, inhibición del metabolismo de los PUFAs (por inhibición de la 6 y 5 desaturasas), y aumento en la síntesis de colesterol (Kromhout, 1995).

La ingesta de formas "trans" de los ácidos mono y polietilénicos se relaciona con diversos efectos biológicos (Judd, 1994). A destacar, entre ellos:

- Modificación en el perfil de los triglicéridos y ésteres de colesterol y fosfolípidos de la membrana celular, interfieren en la desaturación y elongación de los AG, alterando así sus múltiples funciones (Hoy, 1991). Aumento de LDL-Colesterol, disminución de HDL-C (Subbaiah, 1998), a través de la enzima colesterol-acyltransferasa, que esterifica el colesterol libre en plasma transfiriendo el grupo acilo desde la fosfatidilcolina, y que no puede utilizar como sustrato la fosfatidilcolina que contiene un AGT. Esto induce a la formación de ésteres de colesterol saturados, más aterogénicos. El aumento de la proporción de LDL colesterol con respecto a HDL colesterol es aproximadamente el doble que en los AGS.

- Alteración en la síntesis de eicosanoides (Zavenbergen, 1989).

Siendo considerado un factor de riesgo en el desarrollo cerebral del feto y recién nacidos y también en la aparición de enfermedades cardiovasculares. Por ello, la tendencia sería a reducir su ingesta, que se estima en España de 2,4 g/persona/día (Boatella, 1993). Esta reducción de ingesta se ve favorable en niños (Salo, 2000).

La acción de los AGT se ve acentuada cuando no hay cantidades adecuadas de magnesio, por lo que se recomienda a las madres que amamantan a que reduzcan los AGT y incrementen el aporte de magnesio como medida para reducir el contenido de esta fracción lipídica del lactante (Kummerow, 1999). Sin embargo, la cuantificación de 24 fórmulas lácteas en Canadá, señala que en todas las fórmulas, la proporción del isómero trans del alfa-linoleico es superior a la recomendada (Ratnayake, 1997).

1.5. FUNCIONES ESPECÍFICAS DE ALGUNOS ÁCIDOS GRASOS.

1.5.1. ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (CLA).

El ácido linoleico conjugado (CLA) es un AGT especial. Se forma en el primer intestino de los rumiantes, junto con otros isómeros trans, como intermedio en la hidrogenación de linoleico (LA) durante la fermentación anaerobia bacteriana por *Butyvirbio fibrisolvens*. La primera fase en esta hidrogenación es la isomerización de ácido linoleico (LA) para dar lugar a cis, trans C18:2 n-9, n-11 (CLA), una forma conjugada de ácido linoleico. Estos intermedios son entonces hidrogenados para formar una mezcla de ácido vaccénico y elaídico. Sin embargo, una pequeña fracción queda como ALC. Este AG puede formarse también a través de la autoxidación de ácido linoleico por radicales libres, seguido por la reprotonación del radical pentadienilo por proteínas como las del suero (Boatella, 1993). También la flora bacteriana intestinal de las ratas tienen capacidad de producir CLA (Chin, 1994). Libre, pero no el esterificado, en cis, trans, C18:2 n-9, n-11 y trans, cis C18:2 n-9, n-11.

El CLA muestra acciones protectoras demostradas para algunos tipos de cáncer en animales y humanos (Ha, 1990; Masrshlall, 1996; Visonneau, 1997). Además de estas propiedades protectoras, este isómero trans ha sido relacionado con el crecimiento y desarrollo de ratas (Belury, 1997). También se le ha asociado una influencia beneficiosa en el desarrollo del tratamiento de la aterosclerosis. Otra propiedad extraordinaria es su acción antioxidante. En algunos modelos experimentales, se comporta como un alpha-tocoferol y casi tan eficaz como BHT (Ha, 1990). También se ha visto su poder de movilización de los depósitos de grasa, haciendo disminuir la masa adiposa. Extrapolando estos estudios a seres humanos, se ha considerado aumentar las concentraciones de CLA en algunos alimentos, para obtener estos beneficios (Fritsche, 1998).

1.5.2. ÁCIDO DOCOSAHEXAENOICO (DHA).

El ácido docosahexaenoico (DHA) es el único ácido graso n-3 con aplicación clínica, y es el producto final de toda la serie. Sus precursores no son eficaces en su síntesis (únicamente alrededor del 5%), sin embargo, a partir de él se pueden formar

precursores. Es el ácido graso n-3 más largo, insaturado y con mayor relevancia clínica.

La alteración de la elasticidad en las membranas neuronales está en consonancia con el número de dobles enlaces que hay en los ácidos grasos poliinsaturados que componen estas membranas. Estas, contienen una matriz de moléculas lipídicas con una cabeza hidrófila (con afinidad por el agua), y unas cadenas de ácidos grasos hidrofóbicas (Chalon, 2001), siendo el DHA el ácido graso de mayor número de insaturaciones presente en el hombre.

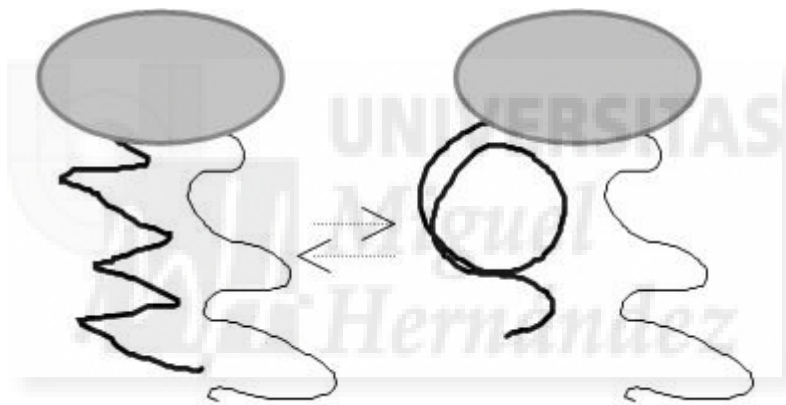


Figura 8. Elasticidad de los fosfolípidos con ácidos grasos poliinsaturados.

Las membranas con alto contenido en DHA son elásticas y responden a una deformación externa como si fueran de goma, las cadenas poliinsaturadas dan estructuras helicoidales, y éstas transicionan rápidamente a un gran número de conformeros en forma de lazo, lo que incrementa la flexibilidad de la membrana neuronal. A medida que aumenta la saturación de la cadena carbonada, la estructura se hace más rígida y como consecuencia, la membrana pierde su flexibilidad.

La mayor concentración de DHA en todo el organismo está en la retina, especialmente en los fotorreceptores y en sus segmentos externos (80-90% de los ácidos grasos). Está muy conservado y su reciclaje debe ser rápido para la función de conos y bastones. Existe una relación directa entre la dieta materna e infantil con el nivel de

DHA en la retina. El DHA es crítico y es un nutriente esencial en el desarrollo neuronal y de la retina en los últimos tres meses de embarazo y el primer año de vida (OMS).

El DHA y ARA son probablemente uno de los factores determinantes de la evolución y adaptación del hombre y de los mamíferos. El DHA es el ácido graso crítico en el nacimiento del hombre como especie. En los mamíferos existe una relación entre: Condición climatológica, cadena trófica, composición de PUFA en las membranas, desarrollo SNC y sistema cardiovascular, inteligencia y función visual.

Se ha demostrado que el DHA tiene un potente efecto sobre el canal de K^+ , Na^+ y Ca^{2+} , tiene influencia sobre la transmisión sináptica en la corteza cerebral. La hipótesis inicial es que la forma activa de DHA es en forma de fosfolípido. Estos fosfolípidos ricos en DHA activan una fosfodiesterasa específica (cGMP-PDE) que hidroliza a la metarodopsina (rodopsina fotoactivada) cambiando el potencial de membrana e iniciando la respuesta neuronal a la luz, siendo más eficaz cuanto mayor es la proporción de DHA, actuando con una amplificación en cascada. Se han realizado tratamientos con DHA en la retinosis pigmentaria, junto con antioxidantes antes de la degeneración de los fotorreceptores de los pacientes (79 Congreso de la Sociedad Española de Oftalmología (2003).

La distribución irregular de los fotorreceptores en la retina y en la depresión foveal al final del desarrollo embriológico depende de la concentración del DHA. Esta depresión foveal determinará la función visual central y agudeza visual. La concentración del DHA determina la velocidad de la conducción nerviosa, umbral y amplitud de los conos y bastones y la relación con el número de fotones absorbidos por la rodopsina. La eliminación de DHA en la lactancia e infancia produce deterioro de la función de los fotorreceptores y distrofia en modelos animales. El DHA se acumula muy rápidamente en el cerebro humano en desarrollo entre las 32 semanas de gestación y los primeros meses postnatales (Koletzko, 2008; Martinez, 1992; Martinez, 1974; Martinez, 1978; Martinez, 1998). La mielina empieza a formarse hacia las 35-36 semanas de gestación (Martinez, 1986; Martinez, 1982; Innis, 2007) y prosigue hasta mucho más tarde, pero es la etapa inicial la verdaderamente importante. Durante este tiempo las restricciones nutricionales o los desequilibrios dietéticos pueden ocasionar

un déficit de mielina y algunas anomalías en los patrones de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) (Martinez, 1989; Martinez, 1988), produciendo un daño que puede ser irrecuperable. La retina se desarrolla aún más pronto y el DHA comienza a aumentar en este tejido hacia las 24 semanas de gestación (Martinez, 1988), de modo que una restricción nutricional en este momento puede reducir el nivel de DHA de la retina peligrosamente (Martinez, 1992).

El papel específico del DHA en la retina puede resumirse en los siguientes puntos:

- i) Estructura de los fotorreceptores y regeneración de los discos.
- ii) Neurotransmisión.
- iii) Fototransducción.
- iv) Inhibidor de la apoptosis e importante factor de supervivencia (Rotstein, 2003; Garelli, 2006)
- v) El DHA reduce la lipoperoxidación y el daño producido por la luz.

El DHA es el ácido graso más fluido para su tamaño ya que es el más poliinsaturado y el más sensible a la oxidación por su cantidad elevada de enlaces insaturados. La retina es donde se hallan los co iniciadores más potentes de la oxidación: el oxígeno y la luz por lo que necesita el sistema antioxidante mas eficaz, particular y único en el todo el organismo.

1.6. ÁCIDOS GRASOS Y ENFERMEDAD.

1.6.1. ÁCIDOS GRASOS TRANS Y ENFERMEDAD CORONARIA.

La hipercolesterolemia es reconocida como uno de los factores de riesgo más importantes en el desarrollo de la enfermedad coronaria y la progresión de las lesiones ateroscleróticas. La dieta, junto a las drogas hipolipemiantes son el eje central para el tratamiento de esta enfermedad, buscando prevenir la progresión de la placa aterosclerótica.

La dieta rica en AGT procedentes de aceites vegetales y marinos hidrogenados parcialmente afecta de forma desfavorable a las lipoproteínas séricas, LDL y HDL de

manera que incrementa el riesgo de enfermedad coronaria (EC) (Goede, 2011), en comparación con otros AG (Kromhout, 1995). El consumo de grandes cantidades de AGT, tiene un nivel de riesgo comparable a la ingesta de AGS. En comidas fritas, bollería industrial y productos lácteos, se necesitan los AGS y AGT para obtener la deseada textura y estabilidad.

La relación entre la ingesta dietética de ciertos tipos de grasas, particularmente las trans insaturadas, y el riesgo de enfermedad coronaria, fue constatado en Boston mediante el seguimiento durante 14 años de la dieta de 80.082 mujeres de entre 34 y 59 años, sin antecedentes de enfermedad coronaria o hipercolesterolemia (Hu, 1997). Cada incremento del 5% de grasas saturadas, frente a hidratos de carbono e igual cantidad de calorías, se asoció con un aumento del 17% en el riesgo de enfermedad coronaria. El riesgo relativo, con un incremento del 2% en la energía provista por grasas trans insaturadas fue de 1.93, el riesgo asociado a un incremento del 5% en grasas monoinsaturadas fue de 0.81, y el asociado a un incremento del 5% en grasas poliinsaturadas fue de 0.62. La ingesta lipídica total no se relacionó de manera significativa con el riesgo de enfermedad coronaria. Se estimó que el reemplazo de un 5% de grasas saturadas por insaturadas reduciría el riesgo en un 42%. De manera similar, el reemplazo del 2% de grasas trans por grasas insaturadas no hidrogenadas reduciría el riesgo en un 53%.

En estudios postmortem en víctimas de EC (Thomas, 1983), se encontraron los niveles más altos de t16:1, sugiriendo que esto fue el resultado del consumo de margarinas de aceites de pescado hidrogenados. Igualmente en plasma de casos de EC documentada con angiografía (Siguel, 1996), el hallazgo más importante fue el incremento de la proporción del ácido graso t16:1. En Australia (Hodgson, 1993), los isómeros encontrados más frecuentemente en enfermos severos fueron los 9t y 17t de 18:1, sugiriendo un consumo de margarinas poliinsaturadas. La prescripción de una dieta como parte de la terapia de la enfermedad produjo durante los 10 años siguientes un cambio radical en el ácido linoleico encontrado en los fosfolípidos. En el estudio EURAMIC, (Kohlmeier, 1997), obtuvieron resultados que fueron concluyentes, un consumo alto de AGT se asocia con un incremento en el riesgo de EC (los dos centros españoles incluidos en el estudio fueron eliminados por tasas muy bajas de AGT

lipídicos).

El origen de t16:1 en tejidos humanos puede ser por retroconversión de t18:1 (Emken, 1993). Si se asume que el t16:1 en plasma refleja la toma de este ácido por la dieta, y si el nivel de ácido linoleico es bajo, puede ser por el consumo de grasas lácteas y de carne de animales rumiantes, ya que hay casos estudiados con EC mortal sin consumo de aceites de pescado hidrogenados (Siguel, 1993).

En poblaciones donde se acostumbra a utilizar el aceite vegetal crudo para cocinar, el consumo de margarina es el indicativo del incremento de AGS y AGT. Este es el caso de los países mediterráneos, donde se encontraron los niveles más bajos de AGT, (Kromhout, 1995). Incluso se observan diferencias entre las poblaciones rural y urbana (Kroustallaki, 2011).

Todo ello, ha conducido a la industria alimentaria a ensayar nuevas formas de producción de las margarinas con eliminación de los ácidos grasos trans (<1%) (Upritchard, 2005; Unilever, 2008), elaboradas a partir de aceites vegetales como soja, maíz, oliva y girasol, con bajo contenido en colesterol y sal y adicionadas con ácidos grasos esenciales y vitaminas.

1.6.2. DÉFICIT NUTRICIONAL DE ÁCIDOS POLIINSATURADOS.

1.6.2.1. Efectos en las neuronas.

Dietas deficientes en ácido linoleico (18:2n-6), inducen a cambios en la composición de ácidos poliinsaturados (PUFA) en las membranas de células gliales y neuronales. Esta modificación tiene un gran impacto en la función de la membrana (y por tanto en la función celular), basado en los cambios en la fluidez, y en el funcionamiento de proteínas asociadas a la membrana (transportadores, enzimas, receptores).

Hay algunos estudios enfocados a conocer los efectos de PUFA en estas actividades asociadas a membrana en células de cerebro y su influencia en la transmisión nerviosa. Se sabe que tiene influencia en la producción de segundos mensajeros (prostaglandinas), que intervienen en la respuesta celular a señales externas.

Además, tiene efectos sobre la actividad de la acetilcolinesterasa y en la recaptación de la norepinefrina (NE) por parte de la membrana presináptica (Fernstrom, 1999).

Cambios en la membrana neuronal y glial de PUFAs por defecto en la dieta, pueden afectar a una de las dos funciones neuronales, la conducción, la transmisión, o a ambas. En ambos procesos está implicada la función de la membrana celular y sus características de fluidez.

Se han realizado estudios sobre la influencia de PUFAs proveniente de la dieta en la membrana de la célula nerviosa periférica y en la conducción. Así, en un estudio en ratas cuya dieta contenía durante 8 meses un 5% de grasa hidrogenada de aceite de cacahuete (deficiente en ácidos grasos n-3 y n-6) o aceite de maíz (deficiente en ácidos grasos n-3), se encontró que en las ratas alimentadas con aceite de cacahuete los fosfolípidos en la mielina del nervio ciático, contenían niveles considerablemente menores de ácidos grasos n-6 que en el caso de las ratas que habían ingerido aceite de maíz. Además, no hubo regeneración de este nervio.

Con deficiencia de PUFAs en la dieta, las membranas de las células nerviosas periféricas tenían menor cantidad de DHA. Las ratas alimentadas con una dieta que contenía un 15% de aceite de girasol (deficiente en ácidos grasos n-3), durante tres-cuatro generaciones mostraron membranas celulares con déficit notable de DHA comparadas con ratas que habían ingerido la misma proporción de aceite de soja (alto en 18:3n-3). El efecto reversible se produjo a los dos meses.

La pérdida o disminución de DHA en el sistema nervioso tiene consecuencias biológicas importantes, aunque éste sea mucho menos alterado que otros órganos. Así, en estudios realizados en diferentes animales (Salem, 2001), se hizo necesario una disminución del 50-80%, para que se asociara a un cambio en la función neuronal. Se detectaron cambios en la visión, olfatorios y cognitivos y pérdidas de memoria espacial. Algunos de estos efectos fueron reversibles. Estudios en niños pretérmino cuando se ha añadido DHA o DHA más ARA a la fórmula láctea ha tenido algunos beneficios, entre ellos, un incremento en la agudeza visual.

1.6.2.2. Repercusión en las células cardiacas.

El corazón late con una fuerza de contracción que es estimulada por nervios simpáticos. Esta estimulación se produce a través de receptores β -adrenérgicos para norepinefrina.

En ratas grávidas alimentadas con una dieta que contenía un 16% (en peso) de aceite de cacahuete (deficiente en ácidos grasos n-6), frente a otro grupo que se alimentó con un la misma proporción de aceite de girasol (deficiente en ácidos grasos n-3), y un tercer grupo con una dieta estándar de laboratorio, se encontraron efectos dietéticos importantes. La norepinefrina vertida fue mucho menor en aquellas ratas alimentadas con aceite de cacahuete, la recaptación era mayor, los receptores α_2 eran más sensibles, el número de β -receptores era mayor y también la cantidad de AMPc estimulado por la NE. En conjunto, los resultados hacen pensar que la sensibilidad del corazón a la NE se hizo mayor. El corazón compensa la reducción a la exposición de neurotransmisores, volviéndose hipersensible. Parece que el efecto primario de las diferencias en la fuente de grasas de la dieta está de nuevo en el sistema nervioso y no en la célula cardiaca.

1.6.2.3. Ácidos grasos omega-3 en las enfermedades mentales.

Los cambios en la dieta ocurridos en el último siglo afectan en gran medida al tipo de grasa consumida, y en poblaciones que han sufrido este cambio en una sola generación el índice de enfermedades mentales ha aumentado drásticamente. También se conoce la posible explicación bioquímica: alteraciones en los fosfolípidos de la membrana celular modificarían la respuesta a neurotransmisores.

El hombre ha sufrido un continuo cambio en su dieta, de ser cazador recolector durante miles de años, ha pasado paulatinamente a formar una sociedad sedentaria industrializada; de alimentarse de peces, vegetales, animales salvajes y frutas (dieta rica en ácidos grasos n-3) (Crawford, 1990; Crawford, 1999) a alimentarse de animales de granja criados con pienso, cereales y leguminosas cultivados, lácteos y alimentos procesados (dieta rica en Omega 6 y grasas saturadas). Este cambio ha sido muy

profundo durante el siglo XX, sin tiempo a adaptaciones de la información genética y que, por tanto, hace que el hombre siga necesitando una ingesta alta de n-3.

Si se ingieren alimentos ricos en ácidos grasos n-6, se produce un aumento de derivados del ácido araquidónico: eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos, leucotrienos, lipoxinas, ácidos grasos hidroxilados) de las series 2 y 4, es decir, los que participan en reacciones inflamatorias y de hipersensibilidad. Por el contrario frente a los alimentos ricos en ácidos grasos n-3, que conducen a un aumento de eicosanoides de las series 3 y 5, con poca o nula acción inflamatoria, y con función reguladora de la agregación plaquetaria.

Se ha podido demostrar esta alteración en animales de experimentación. Así, Djemli-Shipkolye (Djemli-Shipkolye, 2003) observaron en ratas, que las propiedades funcionales de Na, K-ATPasa, dependen en gran medida de la composición de los ácidos grasos de la membrana celular (estudios realizados en nervio ciático).

También, se ha demostrado en seres humanos, y fueron Nabekura J et al., (Nabekura, 1998) quienes en un trabajo publicado en 1998, demostraron que el microambiente lipídico en la membrana afecta a la actividad de los canales iónicos, y que la combinación de tres factores, la concentración de DHA y ARA, la composición de la subunidad del complejo de receptores GABA y la presencia de Zn, parece inducir un espectro de mecanismos moduladores que afectan a la respuesta a ese neurotransmisor en el SNC.

Hay estudios que relacionan la acción de antipsicóticos como la clozapina a la relación 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina (DPPC)/fosfatidilserina, lo que conformaría cambios en la organización lateral y las funciones de la biomembrana (Jutila, 2001). De hecho, en otros trabajos se habla de una sinergia en el tratamiento entre clozapina y n-3, de forma que debido al incremento en la membrana celular de la expresión de Apoproteína D, 2g de EPA diarios podrían actuar sinérgicamente (Peet, 2001; Peet, 2002).

Todos estos descubrimientos relacionan dos fenómenos, la inflamación y la fluidez de la membrana de las células cerebrales con ácidos grasos en la dieta y con

trastornos psiquiátricos que afectan a neurotransmisores. De hecho, comenzó a denominarse teoría de la membrana para referirse a una posible sobreactividad de la fosfolipasa A₂ (PLA₂) (Hudson, 1996; Yao, 2003). Este aumento de actividad de la PLA₂ daría lugar a niveles reducidos de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y, por tanto, estaría relacionada con una reducida formación de eicosanoides proinflamatorios (Horrobin, 1998), y podría explicar la baja prevalencia de enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide.

En este caso, la obesidad está muy relacionada con el estado de inflamación crónico, en el cual, las personas que la padecen, incrementan el riesgo de desarrollar trastornos cardiovasculares (Giordano, 2011).

Las evidencias en las que se basa la teoría de la membrana son:

1) Hay un aumento de los niveles de PLA₂ en sangre de enfermos con esquizofrenia (Ross, 1999), e incluso algunos autores explican la hipofrontalidad de la ESQ en base a ese aumento (Gattaz, 1996).

2) Existen niveles reducidos de ARA y DHA en los fosfolípidos de membrana de hematíes en dichos enfermos (Nabekura, 1998).

3) La resonancia magnética nuclear indica una alta tasa significativa de alteraciones de los fosfolípidos en el cerebro de pacientes con ESQ (Salem, 2001).

4) Estos pacientes tienen una respuesta disminuida al rubor inducido por la niacina oral o tópica, lo que constituye un marcador de la disponibilidad de ARA en las señales celulares e indica que dicha disponibilidad está reducida (Tavares, 2003).

5) Los enfermos de ESQ presentan una reducción en la respuesta a los estímulos visuales y, en este sentido hay que tener en cuenta que la retina es rica en DHA, y el electroretinograma maximal depende de la disponibilidad de DHA (Obayashi, 2003).

6) Se ha observado que la clozapina aumenta el ARA y DHA en hematíes de esquizofrénicos (Ranjekar, 2003).

7) La alteración de los fosfolípidos de membrana justificarían el concepto de

enfermedad sistémica de la ESQ, explicando las asociaciones a una baja incidencia de enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoidea. (Horrobin, 1998). La relación entre ESQ y artritis reumatoidea es, cuando menos, curiosa, ya que los pacientes con esta artritis mejoran con una dieta exenta de triptófano y nicotinamida, y en la ESQ hay una prevalencia muy baja de esta enfermedad, y curiosamente algunos pacientes con ESQ mejoran con triptófano y niacina.

Parece posible tratar esta patología con una dieta más alta en ácidos grasos n-3, para ello, se debería saber si se producen cambios en los fosfolípidos de las membranas celulares o en los derivados del ácido araquidónico cuando se cambia la dieta. Bien, pues en ratones a los que se ha proporcionado una dieta con ácidos n-3, se han demostrado reducciones de leucotrienos de la serie 4 de hasta un 76% (Broughton KS et al 1991). Y en humanos, gracias a los progresos en resonancia magnética nuclear, se sabe que pequeños cambios en el grado de instauración de los fosfolípidos establecen diferencias en el transporte y paso de transmisores a través de las membranas (Salem, 2001), hay que recordar que los poliinsaturados de la dieta están implicados en la regulación de la expresión génica del esteroil regulador que liga la proteína-1 (SREBP-1, sterol regulatory element-binding protein-1) que juega un papel crucial en la regulación de la síntesis de lípidos, su oxidación y termogénesis (Price, 2000).

Por otra parte, en las investigaciones en las que se tratan enfermos de ESQ con ácidos grasos n-3, se ha demostrado paralelamente que mejoran las enfermedades que cursan con trombosis o arritmias (posiblemente por la modulación que inducen estos ácidos grasos en los canales de iones sodio, potasio y calcio (Kang, 1996), tienen un efecto anticonvulsivante (Yehuda, 1994), asimismo mejoran la depresión resistente al tratamiento (Maes, 1999) y el trastorno bipolar, aunque se han dado casos de hipomanía inducida por la ingesta de n-3 (Stoll, 2001). En ESQ, se ha dado EPA en dosis de 2 g/d con buenos resultados (Peet, 2001), otros investigadores encuentran modificados tanto EPA como DHA y proponen una dosis de EPA/DHA (180/120 mg) dos veces al día, asociado a vitamina E y C (400 UI y 500 mg respectivamente) (Arvindakshan, 2003). El papel de DHA podría explicarse, también, debido al incremento de fosfatidilserina, la cual juega un importante papel en la regulación de las señales celulares y en la proliferación celular.

Con respecto a la cantidad de ácidos grasos n-3 para obtener mejoría clínica en enfermos de ESQ, se ha de tener en cuenta que los requerimientos diarios de n-3 son de 350-400 mg/d (0,4% de las kcal totales) (FAO, 1997). Aunque hay una cierta mejoría en los enfermos cuando se les da una dieta rica en pescado graso, las cantidades de EPA y DHA terapéuticas sólo se pueden conseguir mediante la suplementación, en razón de 2 g/día de ácido docosahexanoico (DHA) (Horrobin D, 2003). Hay que recordar que en el hombre está limitado el paso de $\Delta 6$ -desaturasa), de modo que tomar ácido alfa-linolénico (ALA) conlleva sólo un pequeño incremento de EPA y ninguno de DHA.

Parece ser que no existe ninguna contraindicación para suministrar EPA a este tipo de enfermos. Solamente hay que tener precaución en enfermos que estén tomando anticoagulantes, aunque hay trabajos en los que se observa un ligero efecto inmunosupresor que está por comprobar (Wu, 1999; Thies, 2000).

1.6.3. ENFERMEDADES METABÓLICAS EN LAS QUE ESTÁN IMPLICADOS ÁCIDOS GRASOS.

Se pueden clasificar en dos grupos:

1.6.3.1. Trastornos del ciclo de la carnitina y de la beta-oxidación de los ácidos grasos.

Las deficiencias de la β -oxidación mitocondrial son un grupo de enfermedades genéticas, de carácter autosómico recesivo. Se han descrito 15 trastornos distintos en esta vía metabólica. Globalmente se estima una frecuencia combinada de 1:5000 en población general.

Este grupo de trastornos se caracteriza por un defecto hereditario en alguna enzima necesaria para convertir las grasas en energía. En momentos de ayuno la glucosa disminuye, entonces se utilizan las grasas para obtener combustibles alternativos (cuerpos cetónicos). Dado que los niños con estos trastornos tienen bloqueada esta vía, sus células padecen crisis energéticas cuando están bajos de glucosa. Ello es más fácil que ocurra cuando están enfermos o se saltan alguna comida. Sin tratamiento el cerebro y otros órganos pueden resultar afectados, progresando a veces a un estado de coma y muerte súbita. La principal característica clínica es la hipoglucemia hipocetósica asociada con el

ayuno, sin embargo el espectro de síntomas clínicos es muy amplio y abarca desde pacientes asintomáticos o con una leve hipotonía hasta pacientes con debilidad muscular y cardiomiopatía. Los síntomas pueden aparecer pronto después del nacimiento, en forma de fracaso hepático, cardíaco o pulmonar; en otros casos pueden aparecer, más tarde en la infancia, a menudo desencadenados por una infección. El diagnóstico y tratamiento precoz previene de manera efectiva estos daños. Si bien algunos niños a veces todavía desarrollan algún síntoma. El tratamiento incluye una dieta rica en hidratos de carbono y baja en grasas, suplementos nutricionales y evitar los ayunos. Las mujeres embarazadas con fetos con deficiencia de LCHAD tienen riesgo elevado de desarrollar fallo hepático agudo y otras complicaciones en el embarazo. En general el pronóstico es bueno, condicionado a que se establezca un diagnóstico temprano y un manejo terapéutico correcto. Los síntomas incluyen episodios de hipoglucemia y muerte súbita inesperada en la infancia. La mayor parte de los niños pueden presentar fallo cardíaco progresivo. El diagnóstico precoz y el tratamiento con carnitina permiten en algunos casos un desarrollo normal.

Entre los déficits están:

- i) Deficiencia de Carnitina palmitoiltransferasa I (CPTI);
- ii) Deficiencia de Carnitina palmitoiltransferasa II (CPTII);
- iii) Deficiencia de Carnitina acilcarnitina translocasa (CACTD);
- iv) Deficiencia sistémica de transportador de Carnitina (CTD);
- v) Deficiencia de Acil CoA deshidrogenasa de cadena media (MCADD), es la más frecuente y se presenta en niños que están aparentemente bien, que pueden desarrollar bruscamente convulsiones, fallo hepático, coma y muerte súbita. Es vital identificar la enfermedad para prevenir las crisis y evitar las consecuencias. El tratamiento consiste en evitar los ayunos y dar suplementos nutricionales;
- vi) Deficiencia de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHADD);
- vii) Deficiencia de proteína trifuncional mitocondrial (mTFPD);
- viii) Deficiencia de acil CoA Deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCAD).

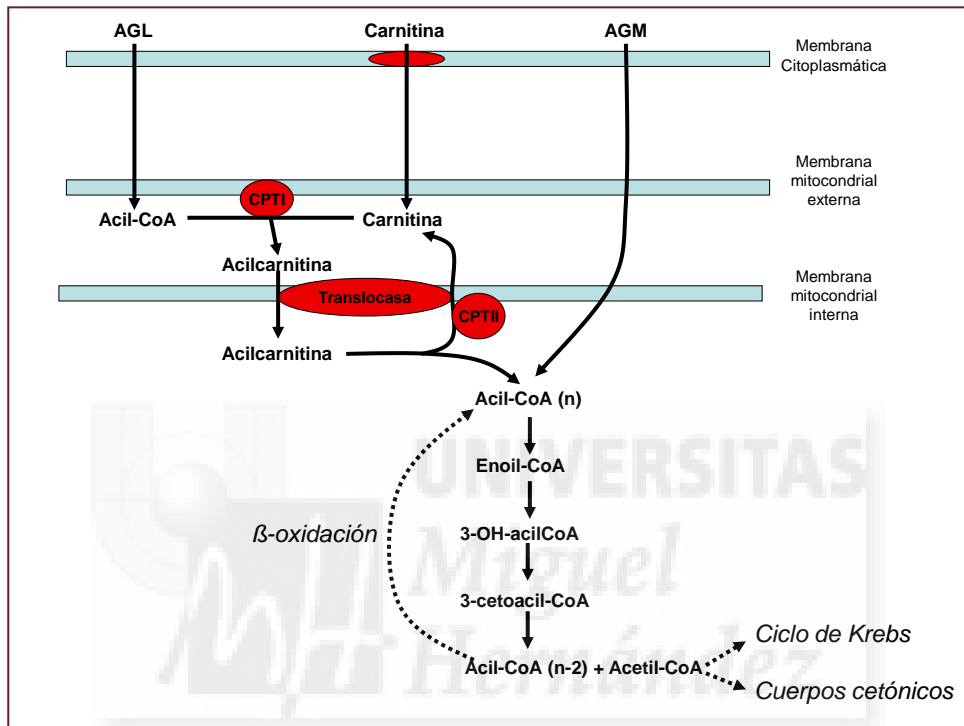


Figura 9. Localización de los diferentes puntos en los que se puede producir el bloqueo en la degradación de ácidos grasos mediante la β -oxidación mitocondrial.

Tabla 5. Alteraciones de los ácidos grasos en cada uno de los tipos de enfermedades asociadas a la β -oxidación mitocondrial.

Déficit	CL (p)	AC/CL (p)	AC (p)	AGL y 3OHAG (p)	AO (o)
MCAD	↓ =	↑	6:0, 8:0, 8:1, 10:1	3OH-AGM	6:0-10:0 5-OH-C6 7-OH-C8
LCHAD	↓ =	↑	OH-C16:0, OH-C18:1, OH-C18:2	3-OH-AGL	6:0-14:0 OH-C6 a -C14
VLCAD	↓ =	↑	14:0, 14:1, 16:0, 16:1, 16:2, 18:0, 18:1 y 18:2	3-OH AGM, 14:1, 14:2 y 16:2	6:0 a 14:0
CPT-II	↓ =	↑	16:0, 18:0, 18:1, 18:2	3-OH AGM, 16:0 a 18:0	N

1.6.3.2. Trastornos ligados al peroxisoma.

Hay que anotar algunos hechos importantes sobre este orgánulo: Algunos productos químicos (drogas, agentes contaminantes industriales) inducen a la proliferación de peroxisomas y el estradiol parece tener un efecto depresivo en peroxisomas (al menos en hepatocitos de animales marinos). Los peroxisomas se replican a sí mismos. En mamíferos son particularmente grandes y abundantes en hepatocitos y células de porciones tubulares de las neuronas. Los peroxisomas tienen un papel esencial en el metabolismo lipídico, en especial en el catabolismo de los ácidos grasos de cadena larga y cadena muy larga, para su completa oxidación en las mitocondrias.

Tabla 6. Funciones bioquímicas del peroxisoma.

FUNCIONES ANABÓLICAS	FUNCIONES CATABÓLICAS
Biosíntesis plasmalógenos Biosíntesis colesterol Biosíntesis ácidos biliares Gluconeogénesis Transaminación glioxilato Biosíntesis prostaglandinas	Respiración celular basada en el H ₂ O ₂ Catabolismo poliaminas Catabolismo purinas Oxidación etanol Catabolismo piperólico B oxidación: ÁG de cadena muy larga Á dicarboxílicos de cadena larga Ácido pristánico Xenobióticos

Hay enfermedades congénitas humanas que se asocian a la ausencia de peroxisomas, a la disfunción de parte de sus enzimas; o al déficit de una de ellas en particular.

Tabla 7. Grupos de enfermedades del peroxisoma.

GRUPO ENFERMEDADES SEGÚN DEFECTO	PEROXISOMAS EN HÍGADO	DEFECTO ENZIMÁTICO
Grupo I: Biogénesis peroxisomal: - Sdme. Zellweger -Adrenoleucodistrofia neonatal -Enfermedad de Refsun -Condrodisplasia punctata rizomélica -Sdme. Zellweger-Like	(-) (+/-) (+/-) (+) anormales (+) normales	Generalizado “ “ Plasmalógenos, fitánico H, tiolasa “, H de AGCML, Ac. biliares
Grupo II: Def. simple implicando β oxidación -Adrenoleucodistrofia ligada a X -Pseudoneonatal ALD -Pseudo Zellweger -Deficiencia del enzima bifuncional	(+) normal (+) anormal (+) anormal (+) normal	Proteína ALD Acyl-CoA-oxidasa Tiolasa Proteína bifuncional
Grupo III: Def. sin implicación β oxidación -Enfermedad de Refsun -Condrodisplasia pseudorizomélica -Acidemia di(tri)OHcolesteatóica -Aciduria mevalónica	? ? ? ?	Ac. Fitánico oxidasa Síntesis de plasmalógenos Síntesis de ácidos biliares Síntesis de colesterol

En el primer caso, un déficit en la biogénesis de peroxisomas puede dar lugar a un número reducido o ausente de los mismos con consecuencia de enfermedad. Se han identificado tres proteínas implicadas en la formación de la membrana peroxisomal (PEX3, PEX16, y PEX19) y una cuarta en la proliferación de peroxisomas (PEX11). Además se necesita el concurso de todas las demás proteínas de la matriz peroxisomal que son codificadas por genes nucleares y sintetizadas en los ribosomas libres en el citoplasma, con una post-translación hacia el citoplasma. Se han identificado dos señales de proteína peroxisomal de la matriz. La señal PTS1, que consiste en un tripéptido conservado en el extremo C-terminal Ser-Lys-Leu-COOH, y una segunda señal PTS2 con secuencia (Arg/Lys)-(Leu/Val/Ile)-X(5)-(His/Glu)-(Leu/Ala), que debe estar presente en el extremo N-terminal. La importación de las proteínas peroxisomales a la matriz incluye cinco pasos distintos: acoplamiento proteína a su receptor-transportador, transporte al peroxisoma, unión al complejo receptor de la membrana, disociación y traslocación y reciclaje del receptor-transportador

En el caso de déficit de la biogénesis se producen el primer tipo de enfermedades descrito en la tabla, con repercusión metabólica sobre todas las funciones del peroxisoma, entre otras la degradación de ácidos grasos de cadena larga, los cuales van a producir una acumulación en el sistema nervioso, en las glándulas suprarrenales y en los testículos, en donde el material acumulado interrumpe la actividad normal. Las características clínicas de este grupo de enfermedades peroxisomales es la suma de las características de los defectos individuales, presentándose en progresión según la severidad del defecto en la biogénesis.

En el grupo 2, existen peroxisomas, pero hay un déficit de una enzima específica ligada directamente a la degradación de los ácidos grasos de cadena larga, siendo la acumulación de estos ácidos el desencadenante de las características clínicas.

El peroxisoma está especializado en la β -oxidación, entre otros compuestos, de los AGCML (de más de 22 átomos de carbono) y de los ácidos biliares precursores. Los AGCML, una vez han sido activados a acil-CoA, son acortados en dos carbonos a través de las cuatro reacciones indicadas; la 2ª y 3ª son catalizadas por una misma enzima bifuncional. El producto final puede experimentar sucesivos ciclos de oxidación (hasta 12 carbonos de longitud) o bien ser eliminado con el concurso de carnitina para

su posterior β -oxidación en la mitocondria si ha sido suficientemente acortado. Los ácidos biliares precursores (ABP) requieren también su previa activación a ABP-CoA, mediante una sintetasa específica microsomal, y a continuación una oxidasa asimismo específica realiza la reacción (1); las demás reacciones (2, 3 y 4) se llevan a cabo por las mismas enzimas. Por lo tanto, en los defectos genéticamente determinados de proteína bifuncional y de tiolasa (pseudo-Zellweger) se encuentran aumentados en plasma los AGCML y los ABP y en cambio en el déficit de AGCML-CoA oxidasa (pseudo-adrenoleucodistrofia neonatal) y en la X-ALD (defecto en la activación de los AGCML a AGCML-CoA), únicamente están aumentados los AGCML. En los defectos de la biogénesis del peroxisoma hay un acúmulo masivo de todos los sustratos de la β -oxidación, AGCML, ABP y ácidos pristánico y fitánico (Figura 10).

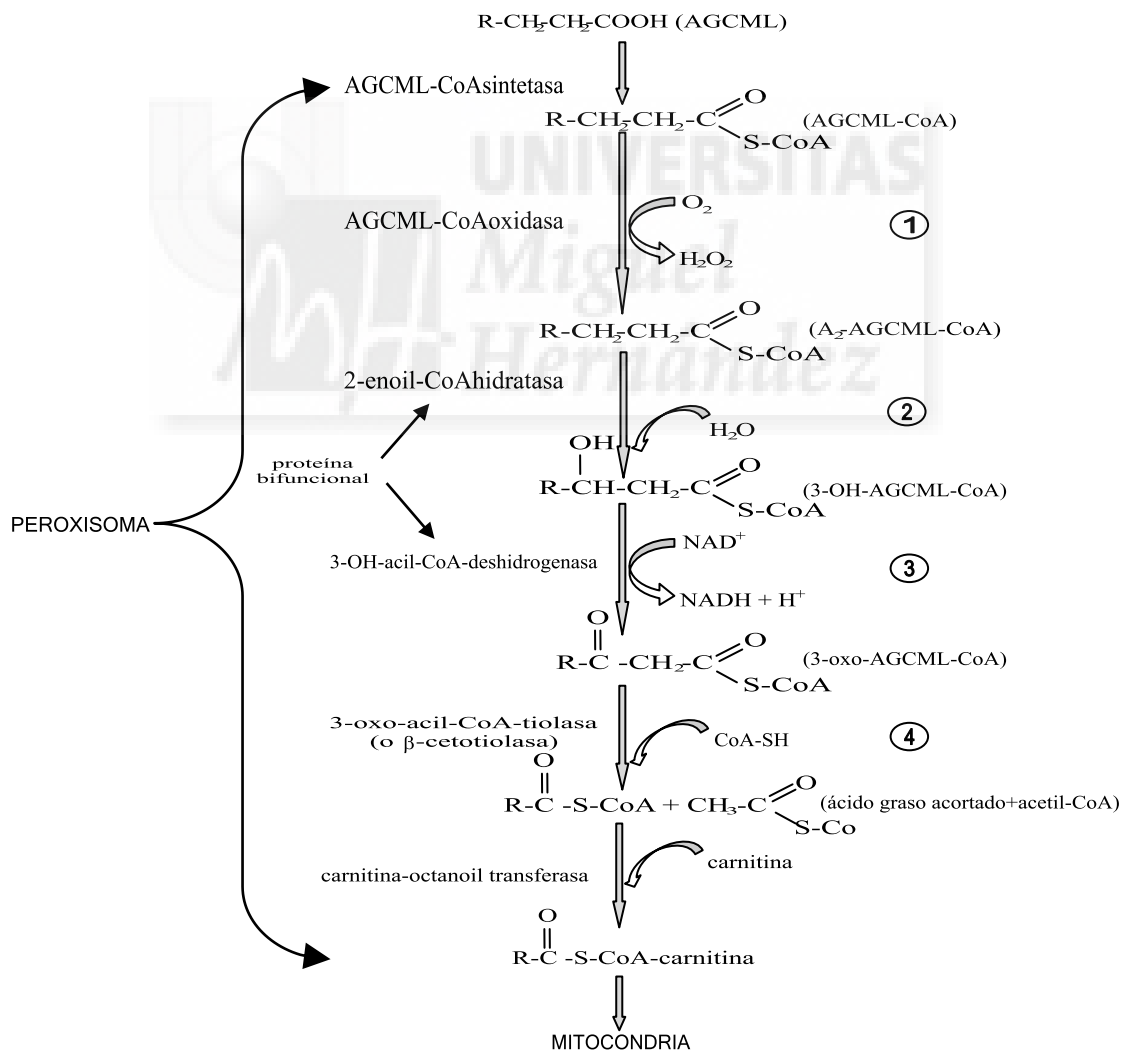


Figura 10. Etapas de la β -oxidación peroxisomal.

La más frecuente de estas enfermedades es la adrenoleucodistrofia ligada al cromosoma X. En mujeres portadoras, el cromosoma X afecto que lleva el gen X-ALD defectuoso no se manifiesta debido a la presencia de una copia normal del gen en el otro X. Los hombres con un cromosoma X afecto, carecen de mecanismo compensatorio de protección y manifiestan los síntomas de la enfermedad.

El principal defecto bioquímico es la alteración de la capacidad para degradar los AGCML saturados, lo cual produce un acumulo de AGCML saturados y no ramificados, de 24 carbonos de longitud hasta 28 o más; 26:0 y 25:0 son los más abundantes. Los mayores aumentos de 26:0 se dan en la fracción de ésteres del colesterol de glándulas adrenales y sustancia blanca cerebral en zonas de desmielinización activa. Incrementos mucho menores, pero significativos, están presentes virtualmente en todos los tejidos y fluidos corporales, incluyendo plasma, leucocitos y fibroblastos de piel cultivados, lo cual permite el diagnóstico en vida de los pacientes.

Es fundamental el tratamiento dietético, con restricción de las grasas saturadas. En ese sentido y durante varios años, se ha utilizado el tratamiento con suplementos de aceites enriquecidos con determinados ácidos grasos; el más utilizado es el llamado aceite de Lorenzo (Rizzo (124) compuesto por una mezcla de trioleato de glicerol y trierucato de glicerol, en una proporción de 5:1. Este aceite parece actuar reduciendo la rapidez de la síntesis endógena de los ácidos grasos saturados de cadena muy larga, aunque su uso ha demostrado que no modifica la rapidez de la progresión neurológica en las formas infantiles o del adulto, pero si resulta de utilidad en las formas asintomáticas o presintomáticas, es decir antes de la aparición de signos neurológicos.

El tratamiento con DHA introducido por Martínez (Martínez, 1974) es más eficaz al ser la carencia de DHA la principal anomalía en los ácidos grasos del cerebro en las enfermedades peroxisomales (Martínez, 2001; Martínez, 2010)



2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Se han propuesto los siguientes objetivos:

1. Describir valores normales de los ácidos grasos en general y LCPUFA n-3 y n-6 especialmente, en suero y fosfolípidos de membranas, a partir de un grupo control.
2. Evaluar la posible relación ácido graso a ácido graso entre sus concentraciones en suero y sus correspondientes valores en los fosfolípidos de membranas celulares.
3. Estudiar la posible correlación entre los valores de los ácidos grasos en suero y sus correspondientes valores en fosfolípidos de membranas celulares.
4. Describir los valores de los ácidos grasos, y en especial los LCPUFA, en suero y fosfolípidos de membrana celular en pacientes pediátricos con afectación neurológica.

5. Comparar los valores de normalidad con los pacientes con afectación neurológica remitidos para descartar patología de ácidos grasos.

Como hipótesis de trabajo se ha establecido que "las concentraciones de cada ácido graso en suero y en los fosfolípidos de las membranas tienen una correlación directa".





3. MATERIAL Y MÉTODOS.

Se realizaron estudios de perfil lipídico en suero y fosfolípidos de membranas de células sanguíneas de una población infantil, en el Laboratorio de Pediatría del Departamento de Farmacología, Pediatría y Química Orgánica de la Universidad Miguel Hernández de Elche y el Servicio de Pediatría del Hospital Universitario de San Juan.

3.1. MUESTRAS.

Se han analizado las dos muestras, suero y fosfolípidos de membranas de 408 pacientes recogidos en el laboratorio de Pediatría de la Universidad Miguel Hernández, remitidos al mismo para descartar patología asociada al metabolismo de ácidos grasos por presentar rasgos de enfermedad neurológica. Se ha utilizado como grupo control un grupo sin ningún tipo de trastorno neurológico ni nutricional conocido. En todos los

casos se han recogido únicamente los datos de los ácidos grasos analizados, anonimizando y eliminando todos los demás datos que pudieran constar. Las muestras analizadas están expresadas en la tabla 8:

Tabla 8. Distribución de las muestras analizadas.

GRUPO	NÚMERO PACIENTES	MUESTRAS SUERO	MUESTRAS FOSFOLÍPIDOS MEMBRANAS	PAREJAS AMBAS MUESTRAS
Control sin patología neurológica ni nutricional	34	31	33	30
Remitidos por trastorno neurológico	374	346	351	320
TOTAL	408	377	384	350

Se practicó una extracción de sangre venosa para analítica convencional, y de la misma se separó una pequeña alicuota de unos 2 ml de sangre que fue recogida en un microtainer de polipropileno con silicona, y separado el suero a 2.500rpm durante 15min. Tanto el suero como el botón celular fueron remitidos al laboratorio de investigación para ser procesadas inmediatamente, o almacenadas en el congelador a -5°C hasta el momento de su análisis, evitando la exposición a la luz y a altas temperaturas, que podrían alterar la composición lipídica de las muestras debido a reacciones de oxidación de los ácidos grasos. Las muestras son descongeladas inmediatamente antes del análisis.

Los reactivos, así como el instrumental utilizado se describen en cada uno de los apartados siguientes, junto con el método a seguir.

3.2. MATERIAL Y MÉTODOS.

3.2.1. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA GRASA TOTAL DE SUERO SANGUÍNEO.

Se toman de cada muestra de suero alrededor de 1g en tubos de vidrio, previamente tarados, en una balanza analítica de precisión Sartorius MC-1 de sensibilidad 0,01mg. Se anotó el peso exacto de muestra (P_1). Se añade 1ml de agua bidestilada y 3,75ml de una mezcla de metanol:triclorometano en proporción 2:1, que se utiliza como disolvente para iniciar así la extracción lipídica. Se agita mecánicamente. Se lleva la mezcla a una temperatura de 37°C, en estufa y se mantiene en ella durante media hora. Pasado este tiempo, se dejan enfriar los tubos hasta alcanzar la temperatura ambiente (Folch, 1957).

Se adicionan 1,25ml de agua bidestilada junto con 1,25ml de triclorometano. Se agita mecánicamente. Se enfrían los tubos en un baño de hielo durante 15min. Se centrifuga a 4.000 rpm y 5°C de temperatura durante 40min. Se separan tres fases. La fase superior es la que contiene el extracto lipídico. Esta fase se transfiere a un tubo de vidrio (previamente pesado, P_t), mediante jeringas de vidrio provistas de agujas de punción lumbar. Se realiza una nueva extracción añadiendo 1,25ml de triclorometano y se recoge la fase clorofórmica, añadiéndola al extracto anterior.

Se lleva a sequedad la fase orgánica, en atmósfera de nitrógeno en baño de agua a 50°C. Una vez seco, se pesa nuevamente el tubo de vidrio (P_2). La diferencia gravimétrica permite calcular el peso de la grasa total que contenía la muestra de partida (P_2-P_t) y el porcentaje de grasa de la muestra.

$$\% \text{ Grasa} = 100 \times (P_2 - P_t) / P_1$$

Inmediatamente pesada, y para prevenir la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga, se adicionan unos miligramos de pirogalol.

3.2.2. EXTRACCIÓN DE LA GRASA TOTAL DE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS.

En los botones celulares sanguíneos separados del suero se procede a la determinación de lípidos. Para ello se toman alrededor de 0,5g pesados en tubos de vidrio, previamente tarados, en una balanza analítica de precisión Sartorius MC-1 de sensibilidad 0,01mg. Se anota el peso exacto (P₁). Se añade 1ml de agua bidestilada a la muestra, se deja reposar durante 5 min para favorecer la rotura de las membranas celulares. Transcurrido este tiempo, la muestra se somete a ondas de ultrasonidos en un sonicador Branson Ultrasonics Converter. Mediante la sonicación se produce la total ruptura de membranas, disgregándose y rompiéndose restos de coágulos sanguíneos procedentes de la muestra. La sonicación se realiza en 3 intervalos de 15 seg cada uno y descanso en hielo entre cada intervalo para evitar el excesivo calentamiento de la muestra.

Se añaden a la muestra 5ml de isopropanol a -80°C, con pipeta de 1000µl, gota a gota y agitando continuamente, para evitar la coagulación de la muestra. Se deja reposar la a temperatura ambiente durante 15min. Se añaden 3ml de cloroformo. Se agita la muestra y se centrifuga a 3.600r.p.m durante 40 min a una temperatura entre 0-10°C. El tubo centrifugado presenta 3 fases. La fase inferior contiene restos precipitados de hematíes. La fase superior es la orgánica, si está algo turbia, es que posee algunos restos acuosos que conviene desechar, para ello se efectúa una nueva extracción con 3ml de cloroformo. Una vez limpia esta fase orgánica se pasa a un tubo de vidrio previamente tarado y cuyo peso se anota (P₁). La muestra en el interior del tubo se lleva a sequedad total mediante flujo de nitrógeno.

Una vez pesado el tubo con el contenido lipídico de la muestra resultante (P₂), se calcula el porcentaje total de grasa de la muestra original:

$$\% \text{ Grasa} = 100 \times (P_2 - P_1) / P_1$$

Se añaden 150µl de una mezcla de cloroformo/metanol (19:1). Se agita el tubo para facilitar la disolución. Así, una vez pesada, queda la grasa disuelta de nuevo para su posterior procesamiento.

3.2.2.1. Separación de los fosfolípidos por Cromatografía en Capa Fina.

Se utiliza como fase estacionaria una capa fina de gel de sílica sobre placa de vidrio. Se aplican 50µl de las muestras añadiendo pequeñas gotas de solución en un pequeño círculo cerca del extremo inferior de la placa. Cada aplicación se deja secar antes de colocar más muestra, cuidando de que la mancha no se haga demasiado grande. Para facilitar la aplicación, se fabricaron unas plantillas de acetato, en las que se hacen unas marcas o recuadros sobre las que se dejaban caer las gotas. Los puntos de aplicación deben distar 1cm entre sí, así como de los bordes inferior y laterales. Desarrollo de la cromatografía. En una cubeta de cromatografía se añade la fase móvil, una mezcla de hexano-éter-ácido acético (70:30:1; v:v:v), de manera que el líquido debe cubrir alrededor de 1cm del borde inferior de la placa, y un poco por debajo de la línea de aplicación de las muestras. Se coloca la cromatoplaquea con las muestras en el interior de la cubeta, y se procede al desarrollo cromatográfico hasta que el frente de la fase móvil llegue al final de la placa. Se saca la placa con cuidado de la cubeta y rápidamente se señala en el margen la altura a la que ha llegado el disolvente. Se deja la placa a temperatura ambiente hasta que se evapora todo el disolvente absorbido. Se vuelve a repetir el desarrollo cromatográfico hasta la marca del borde superior de la placa, con el fin de concentrar las manchas eluidas. Se saca la placa y se deja secar hasta que se evapora el disolvente.

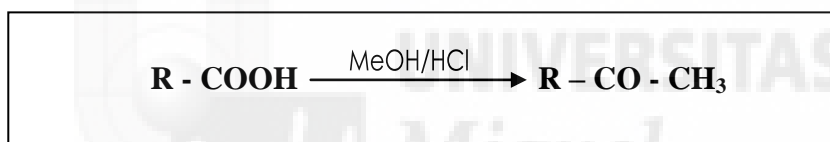
Revelado de la placa. La identificación de los diferentes tipos de lípidos se efectúa en función del desplazamiento que consigue cada uno de ellos en el sistema. Una vez seca, la placa se revela con ácido molibdatofosfórico en etanol al 5%. El orden de elución obtenido es: ésteres de colesterol, triglicéridos, colesterol libre, y por último, prácticamente en el lugar en el que se coloca la muestra, los fosfolípidos, que se recuperan raspando la sílica, con mucho cuidado, con un bisturí y marcando

previamente el rectángulo de la plantilla de acetato utilizada para la aplicación de las muestras. El polvo raspado se lleva a un tubo de vidrio.

A este tubo se le añaden 25µl de una disolución clorofórmica (10mg/ml) de ácido heptadecanoico (estándar C₁₇). Se añade también 1ml de una solución de metanol/hexano (4:1) y unos miligramos de pirogalol. Este tubo contiene la muestra preparada ya para la obtención de ésteres metílicos.

3.2.3. OBTENCIÓN DE LOS ÉSTERES METÍLICOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS.

Para poder separar y cuantificar los ácidos grasos mediante cromatografía de gases, antes es necesaria su metilación:



Para ello, se disuelve el extracto lipídico obtenido según el apartado anterior, en 1ml de una mezcla metanol:hexano (4:1). Se añade 1ml de cloruro de acetilo, con micropipeta de 200µl, y gota a gota. Se agita bien para eliminar los gases desprendidos, todo ello en corriente de nitrógeno para evitar oxidaciones. Se tapan fuertemente los tubos y se llevan a un baño de agua hirviendo durante una hora. Después para parar la reacción se enfrían los tubos hasta alcanzar la temperatura ambiente en un baño de hielo Verkade HJ, (Verkade, 1989).

Se realiza entonces la extracción de los ésteres metílicos, añadiendo 3ml de K₂CO₃ al 6% y 1ml de n-Hexano. Se agita fuertemente en el agitador mecánico hasta que se desprende todo el gas. Se centrifuga durante 10min a 3.600 rpm.

Se extrae el sobrenadante que contiene los ésteres metílicos de los ácidos grasos. Si la capa no está lo suficientemente limpia o transparente, se puede realizar un posterior lavado con una solución acuosa de HNaCO₃ al 5%, agitar y centrifugar en las mismas condiciones anteriores, extraer la fase de n-Hexano, que contiene los metil ésteres de los ácidos grasos, unir al extracto anterior y llevar todo a sequedad mediante

flujo de nitrógeno. El extracto se redissuelve en n-Hexano hasta una concentración fija (1mg/100µl), de los que se llevan 100µl a viales cónicos de 200µl de capacidad con tapón roscado para su análisis cromatográfico.

3.2.4. SEPARACIÓN Y CUANTIFICACIÓN MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES.

3.2.4.1. Preparación de patrones.

En la preparación de los estándares para la utilización del análisis cromatográfico, se emplean viales de vidrio color ámbar, con el fin de evitar la luz directa, y una vez preparados, se llevan a -80°C , para evitar posibles oxidaciones de ácidos grasos poliinsaturados, así como pérdidas de n-hexano por evaporación. Para ello, se utilizan 100µl de una mezcla estándar de ésteres metílicos de todos los ácidos grasos a analizar, con proporciones conocidas de cada uno de ellos (Nu-Chek-Prep, INC GLC 85), añadiendo 40µl con los ésteres metílicos de los estándares individuales de aquellos ácidos grasos no presentes en el estándar general (Sigma Chemical Co.). Finalmente, se diluye la mezcla con 60µl de n-Hexano.

Con esta muestra de estándares general y los correspondientes metil ésteres de los ácidos grasos individuales, se calculan los tiempos de retención, los espectros de masas de cada uno de ellos, con el fin de elegir las masas más adecuadas en cada entorno del cromatograma y los factores de áreas/concentración y reproductibilidad del método.

Para la posterior identificación de los ácidos grasos de las muestras a analizar, se preparan viales iguales a los utilizados en los estándares, y se introducen 120µl de muestra extraída de sueros y 150µl si proviene de los fosfolípidos extraídos de las membranas celulares. Se añaden 10µl de estándar C17 y el resto hasta completar los 200µl de n-hexano, (70µl para muestras de suero y 40µl para muestras de fosfolípidos de membranas).

3.2.4.2. Desarrollo cromatográfico y cuantificación de los ácidos grasos.

La separación de los metil-ésteres de los ácidos grasos, tanto de estándares como de todas las muestras se ha realizado en un cromatógrafo de gases Shimadzu modelo GC-17, provisto de un autoinyector Shimadzu AOC-20i y detector de espectrometría de masas Shimadzu modelo QP-5000 (Figura 11), utilizando la columna ω -wax de sílica de 30 m de longitud y un diámetro interior de 0,25 mm.



Figura 11. Fotografía del sistema Shimadzu cromatográfico utilizado.

El software del sistema hace posible el control del GC, Espectrómetro de Masa y Autoinyector de las muestras, mediante ordenador en el entorno Windows, controlando el desarrollo de método, tiempo real y procesado de los datos después del análisis. Los parámetros utilizados en el sistema cromatográfico, tanto para la separación como para la cuantificación están copiados directamente de la programación del sistema utilizado y son los siguientes:

```
Method FILE = MJHN.MET
** Header **
Developer: Pablo
Date Time :05/11/03 12:25:43
Identificacion y Cálculo de Ácidos Grasos en Muestras Biológicas
** GC Parameters **
[Injector ]
Temp. (°C): 250.00
```

Oven

Initial Temp.(°C): 160.00

Initial Time(min): 1.00

Temp. Program: RATE(°C/min) TEMP(°C) TIME(min)

0.50	180.00	3.00
1.00	228.00	10.00

Equil. Time(min): 3.00

[Flow Controller] Split: 84.40

Carr.Gas Press (kPa): 1.00

Carr.Gas Press Time(min): 1.00

Press. Program: RATE (kPa/min) PRESS(kPa) TIME(min)

0.20	93.00	4.0
0.40	110.50	10.3

Total Flow(ml/min): 30.30

Split Ratio: 30.00

[Column]

Length(m): 30.00

Diameter(mm): 0.25

[Interface]

Temp.C°C): 230.00

** GC Event Program ** No data exists !

** DI Parameters ** No data exists

** Scan Parameters **

[Acquisition]

Detector Volts(kV): 1.80

Solvent Cut Time(min): 1.90

Acquisition Time(min): 2.10-82.00

Mass Range: 50.00-420.00

Interval(sec): 1.00

Threshold: 1000

Real Time Monitor

Monitor(TIC and): Spectrum

TIC Time Scale(min): 10.00

TIC Intensity Scale: 1000000

MC Intensity Scale: 1000000

Monitoring M/Z*Factor No data exists !

** SIM Parameters **

[Acquisition]

Detector Volts(kV): 1.50

Ion Set Max.: 5

Solvent Cut Time(min): 1.80

Sampling Rate(sec): 0.20

Micro Scan Ljidth: 0.00

-- Ion Set # 1--	-- Ion Set # 2--	-- Ion Set # 3--	-- Ion Set # 4--	-- Ion Set # 5--
Acquisition Time(min): 1.85 -23.50	Acquisition Time(min) : 23.50 -47.00	Acquisition Time(min): 47.00 - 65.50	Acquisition Time(min) : 65.50 -74.50	Acquisition Time(min): 74.50 -102.00
M/Z	M/Z	M/Z	M/Z	M/Z
CH 1 55.00	CH 1 55.00	CH 1 55.00	CH 1 55.00	CH 1 55.00
CH 2 69.00	CH 2 67.00	CH 2 67.00	CH 2 67.00	CH 2 67.00
CH 3 74.00	CH 3 69.00	CH 3 79.00	CH 3 69.00	CH 3 74.00
CH 4 87.00	CH 4 74.00	CH 4 80.00	CH 4 74.00	CH 4 79.00
CH 5 143.00	CH 5 81.00	CH 5 87.00	CH 5 79.00	CH 5 87.00
CH 6 186.00	CH 6 83.00	CH 6 91.00	CH 6 80.00	CH 6 91.00
CH 7 214.00	CH 7 87.00	CH 7 95.00	CH 7 81.00	CH 7 119.00
CH 8 228.00	CH 8 96.00	CH 8 135.00	CH 8 91.00	CH 8 131.00
CH 9 242.00	CH 9 292.00	CH 9 150.00	CH 9 95.00	CH 9 348.00
CH10 270.00	CH10 294.00	CH10 161.00	CH10 10800	CH10 382.00
CH11 284.00	CH11 296.00	CH11 180.00	CH11 150.00	CH11 410.00
Real Time	CH12 326.00	CH12 320.00	CH12 320.00	Real Time
Monitor	Real Time	CH13 322.00	CH13 348.00	Monitor
TIC Time	Monitor	Real Time	CH14 350.00	TIC Time
Scale(min): 10.00	TIC Time	Monitor	CH15 354.00	Scale(min): 10.00
TIC Intensity	Scale(min) 10.00	TIC Time	Real Time	TIC Intensity
Scale: 1000000	TIC Intensity	Scale(min): 10.00	Monitor	Scale: 1000000
SIM Intensity	Scale 1000000	TIC Intensity	TIC Time	SIM Intensity
Scale: 1000000	SIM Intensity	Scale: 1000000	Scale(min): 10.00	Scale: 1000000
Monitoring	Scale 1000000	SIM Intensity	TIC Intensity	Monitoring
M/Z*Factor: (1)	Monitoring	Scale: 1000000	Scale: 1000000	M/Z*Factor: (1)
55.00 * 1.0	M/Z*Factor (1)	Monitoring	SIM Intensity	55.00 * 1.0
(2) 69.00 * 1.0	55.00 * 1.0	M/Z*Factor: : (1)	Scale: 1000000	(2) 67.00 * 1.0
(3) 74.00 * 1.0	(2) 67.00 * 1.0	55.00 * 1.0	Monitoring	(3) 74.00 * 1.0
(4) 87.00 * 1.0	(3) 69.00 * 1.0	(2) 67.00 * 1.0	M/Z*Factor: (1)	(4) 79.00 * 1.0
	(4) 74.00 * 1.0	(3) 79.00 *	Scale: 1000000	
		(4) 80.00 * 1.0	M/Z*Factor: (1)	
			55.00 * 1.0	
			(2) 67.00 * 1.0	
			(3) 69.00 * 1.0	
			(4) 74.00 * 1.0	

[MS Program]

TIME(min) FUNCTION VALUE

32.00 Detector Volts= 1.80

**** Qualitative Parameters ****

[Integration Parameters 1

Processing Time: Partial

Start Time(min): 0.00

End Time(min): 23.00

Raw Spectrum: Peak Top

Background Spectrum: No

[Peak Processing Parameters]

Width(sec): 1.00

Slope(*1000/min) : 400.00

Drift(*1000/min) : 0.00

T.DBL(min): 1000.00

Smoothing Width(sec): 0.00

Smoothing Times: 0

Minimum Count: 0

[Time Program]

TIME(min) FUNCTION VALUE

24.70 DRIFT= 5000.00

25.50 DRIFT= 0.00

27.50 WIDTH= 3.00

37.00 SLOPE= 300.00

44.40 DRIFT= 5000.00

46.50 SLOPE= 700.00

[Multi Ion Chromatogram List]

No data exists

[Mass Chromatogram List]

No data exists

[Spectrum Format Parameters]

Fixed Display Mass Range: No

Relative Intensity Threshold (%): 0.50

Base Peak M/Z: No

Multiplication: No

Hydrogen Compensation: No

[Similarity Search Parameters]

Library File - Minimum SI (1) ACGRASOS.LIB - 70

Search Depth: 1

Maximum Hit #: 25

Post Search: Yes

Molecular Weight: No

Molecular Formula: No

Class: 9.Fatty Acids and Lipids,

Ret. Index: No

Base Peak M/Z : No

Compound Name: No

**** Quantitative Parameters ****

[Calibration Parameters]

Quantitative Method: Internal Standard

Calculate by: Area

Function: Least Square Method ($y=ax$)

of Calibration Levels: 1

Identification Method Bar

El programa de ordenador utilizado fue CLASS-5000 para cromatografía de gases.

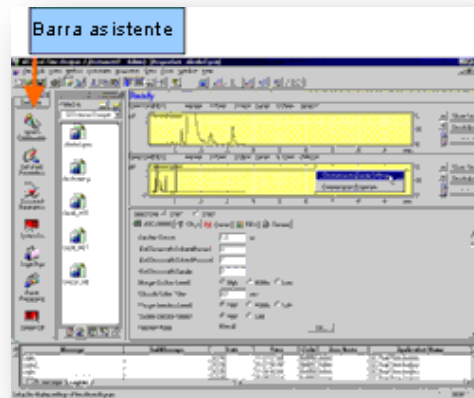


Figura 12. Pantalla tipo del ordenador con las ventanas del programa en uso.

La barra de asistente permite hacer el uso de las operaciones y ejecutar el análisis y sus ajustes pulsando los iconos en orden.

El explotador de datos clasifica los archivos y los exhibe en el formato de lista. La función wizard ayuda a ajustar los parámetros objeto de cuantificación, permite realizar tablas y curvas de calibración de multi-punto para análisis consecutivo de múltiples analitos, con opción de repetición del análisis. La cuantificación de los ácidos grasos componentes de las muestras, se realiza utilizando las sumas de las áreas de las diferentes masas utilizadas en cada ventana del cromatograma. (Musket, 1983; Van Der Steege, 1987; Volmer, 1988).

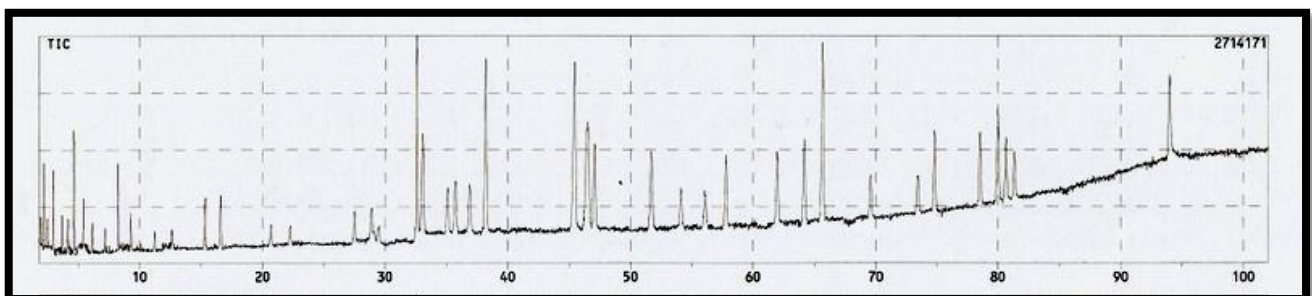


Figura 13. Cromatograma total de los estándares.

El orden de elución de los ácidos grasos analizados ha sido: C6; C8; C10; C12; C12:1; C14; C14:1n5; C16; C16:1n7; C18; C18:1n9; tC18:1n9; C18:2n6; tC18:2n6; C18:3n6; C18:3n3; C20; C20:1n15; C20:1n9; C20:2n6; C20:3n6; C20:4n6; C20:3n3; C20:5n3; C22; C22:1n9; C22:2n6; C22:4n6; C22:3n3; C22:5n3; C24; C22:6n3; C24:1n9; C26. En total son analizados 34 ácidos grasos de longitud entre 6 y 26 carbonos, en un total de tiempo de unos 120 minutos entre muestras.

Para el cálculo de la concentración de los ácidos grasos en las muestras, se relaciona el área obtenida del pico de cada ácido graso individual, con el área del patrón interno (C_{17:0}), añadido al inicio y cuya concentración es conocida. La selección del éster metílico del ácido heptadecanoico (C_{17:0}), se hizo debido a que no se encuentra en las muestras biológicas de manera habitual y debido a que su tiempo de retención no interfiere con ningún otro ácido graso presente en las muestras.

El detalle del cromatograma por secciones (ventanas ion-set) es el mostrado en las figuras siguientes:

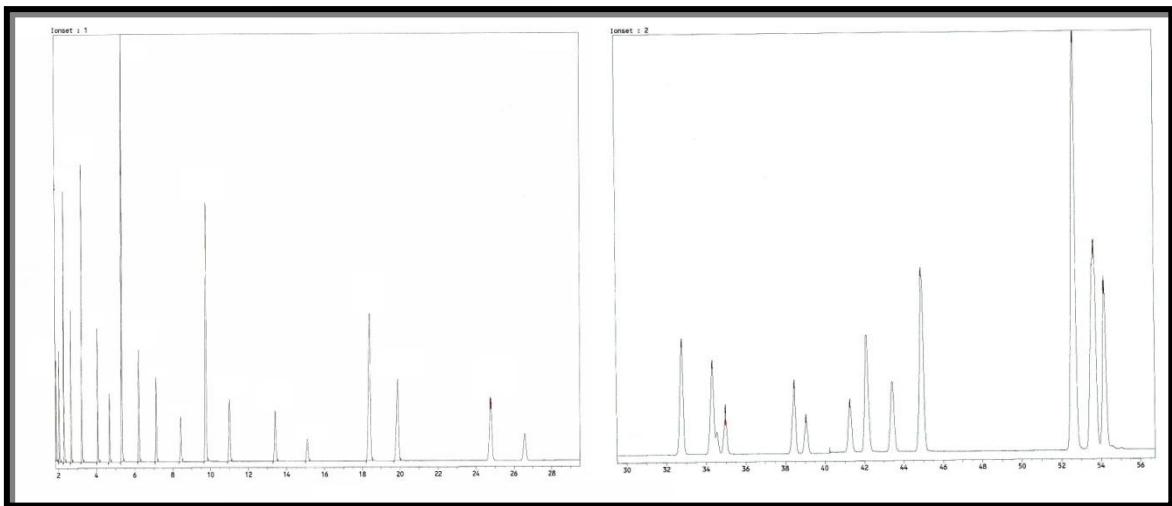


Figura 14. Secciones correspondientes a los ion-set 1 y 2 del cromatograma.

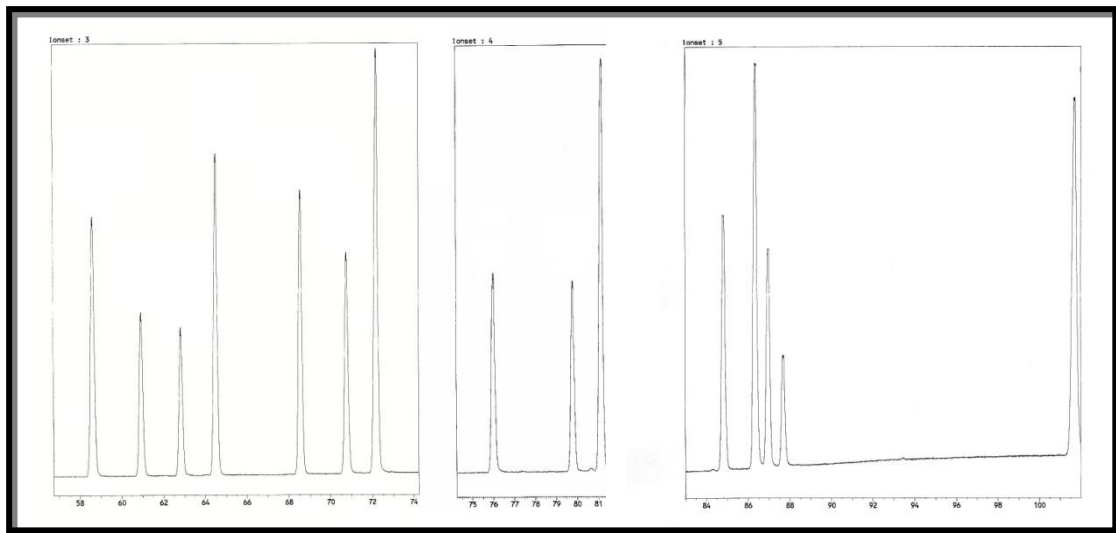


Figura 15. Secciones correspondientes a los ion-set 3, 4 y 5 del cromatograma.

La cantidad de éster metílico inicial, da una respuesta en el cromatograma como suma de las masas analizadas en forma de pico cuya área es directamente proporcional a dicha concentración. La concentración en mg/g se calcula con la siguiente fórmula:

$$[AG] = (\text{área pico AG} \times [C17:0]) / (\text{área pico C17:0} \times \text{cantidad de muestra})$$

Se comprueba la reproductibilidad del equipo sistemáticamente mediante la inyección periódica en el cromatógrafo de una solución patrón (Nu-Chek-Prep, INC. GLC-463).

Las tablas obtenidas con los porcentajes de cada ácido graso (peso/peso) se trasladan al programa Microsoft Excel, con el fin de obtener el informe completo y archivarlo. En este programa se introdujo la fórmula anterior y se calcularon directamente las concentraciones a valorar.

Los resultados de las concentraciones de todos los ácidos grasos se trasladan a una hoja Excel, en la que únicamente figura si pertenece al grupo control o remitido por sospecha, quedando anonimizados y no filiables los datos a partir de este momento.

3.3. ESTUDIO ESTADÍSTICO.

Para el estudio estadístico fueron trasladados los datos desde la página Excel al paquete estadístico IBM SPSS Statistics 20.0 mediante el cual se fueron estableciendo los distintos grupos de ácidos grasos y grupo control y con sospecha de metabolopatía y realizándose las pruebas estadísticas correspondientes en cada caso y que están especificadas en el apartado de resultados.

Se estableció un nivel de significación $p < 0.05$.





4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. VALORES DE NORMALIDAD DE LOS ÁCIDOS GRASOS COMPRENDIDOS ENTRE C6-C26 EN MUESTRAS DE SUERO Y FOSFOLÍPIDOS DE MEMBRANA.

Se han obtenido los % peso/peso de todos los ácidos grasos entre C6-C26 de un total de 35 muestras en suero y fosfolípidos de membrana, tanto saturados como insaturados, de muestras de sangre residuales anónimas de pacientes en edades pediátricas, a los que se les ha solicitado analítica por causas ajenas a problemas neurológicos o nutricionales. En las tablas siguientes están expresados los valores medios encontrados y sus desviaciones estándares, tanto en los sueros como en los fosfolípidos de membranas de las células sanguíneas. De los 35 pacientes analizados se

han obtenido resultados de 30 parejas (suero y fosfolípidos de la misma muestra de sangre), realizándose el estudio comparativo pareado de los ácidos grasos en ambas muestras.

Para facilitar la lectura y comprensión de los perfiles de los ácidos grasos se han distribuido en grupos de los mismos en ácidos grasos saturados (cadena media, larga y muy larga y total de saturados), monoinsaturados (n-9 y total), familia n-6, familia n-3 y ácidos grasos trans.

Tabla 9. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos saturados en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n= 33).

ÁCIDO GRASO (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
C6	0,01	0,03	0,049	0,00	0,00
C8	0,14	0,29	ns	0,04	0,07
C10	0,12	0,17	0,037	0,05	0,06
C12	0,31	0,57	ns	0,26	0,95
C14	1,56	2,15	0,008	0,45	0,25
C16	24,89	6,19	ns	25,92	2,11
C18	11,78	4,57	0,000	19,77	2,04
C20	0,38	0,55	ns	0,19	0,35
C22	2,68	0,98	0,020	2,29	0,55
C24	1,15	1,62	0,000	4,79	0,69
C26	0,20	0,40	0,015	0,66	0,84

Analizando estos resultados, se observa que en general, los ácidos grasos saturados tienen niveles inferiores en suero que en los fosfolípidos de las membranas, y de los dos mayoritarios, el palmítico (C16) tiene los mismos niveles y el esteárico (C18) está incrementado significativamente en los fosfolípidos de membrana.

En este sentido, cabe apuntar que el ácido palmítico es el final de la síntesis de ácidos grasos mediante el complejo ácido graso sintetasa y después es alargado por sistemas de elongación del retículo endoplasmático.

Tabla 10 Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos monoinsaturados en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=33).

ÁCIDO GRASO (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
C12:1	0,11	0,37	0,031	0,61	1,11
C14:1n5	0,03	0,10	ns	0,02	0,03
C16:1n7	0,57	0,44	0,034	0,26	0,61
C18:1n9	13,22	3,83	0,000	9,43	1,26
C20:1n15	0,09	0,26	ns	0,02	0,04
C20:1n9	0,22	0,21	0,000	0,05	0,07
C22:1n9	3,79	4,51	0,000	0,09	0,17
C24:1n9	1,42	1,36	0,000	4,48	0,79

En este grupo de ácidos grasos, monoinsaturados no esenciales, se observa que el de mayor concentración es el oleico, que tiene concentraciones mayores en suero que en los fosfolípidos de las membranas celulares, lo que puede ser debido a que su presencia es debida sobre todo a la dieta.

Tabla 11. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos insaturados n-6 en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n= 33).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
C18:2n6	21,37	8,96	0,000	8,53	2,55
C18:3n6	0,04	0,13	ns	0,01	0,02
C20:2n6	0,74	2,04	ns	0,05	0,08
C20:3n6	0,93	0,48	ns	0,84	0,38
C20:4n6	6,24	3,92	0,000	12,55	3,23
C22:2n6	0,52	1,47	ns	0,02	0,02
C22:4n6	0,48	1,06	0,000	2,34	0,85

En los ácidos grasos de la familia n-6 se observan varios hechos relevantes y en apariencia contradictorios, por un lado el linoleico (C18:2n6) es superior en suero que en los fosfolípidos, sin duda debido a su origen dietético exclusivo, ya que hay una correlación significativa entre la dieta y dicho ácido (Burrows, 2012), los otros dos mayoritarios, el araquidónico (C20:4n6) y el docosahexaenoico (C22:4n6) se acumulan en las membranas, teniendo concentraciones significativamente mayores que las de sus sueros correspondientes. No hay relación entre la composición de ácidos grasos de la dieta y las fracciones de lípidos en sangre en relación al ácido araquidónico, sin embargo, hay una correlación negativa significativa entre la ingesta de ácido eicosapentaenoico (EPA) + ácido docosahexaenoico (DHA) y la composición de ácido araquidónico en fosfolípidos de membrana (Kawabata, 2011). Este hecho confirma la no concordancia entre los datos en suero y fosfolípidos de membrana que se observan en los datos del presente estudio.

Tabla 12. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos insaturados n-3 en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=33).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
C18:3n3	0,48	1,60	ns	0,04	0,12
C20:3n3	0,04	0,18	ns	0,01	0,02
C20:5n3	4,31	2,51	0,000	1,83	0,96
C22:3n3	0,05	0,12	ns	0,03	0,04
C22:5n3	0,47	0,80	0,048	0,80	0,45
C22:6n3	1,15	0,76	0,000	3,14	2,15

En el grupo de ácidos grasos de la familia n-3, los valores obtenidos muestran que el ácido graso esencial de esta familia, linolénico (C18:3n3), y el ácido graso semiesencial, eicosapentaenoico (C20:5n3), tiene valores muy superiores en suero, debido a la obtención exclusiva por la dieta. Por otra parte, el ácido graso semiesencial docosahesanoico (C22:6n3), tiene un valor superior en fosfolípidos de membrana, debido a su acumulación en la membrana celular. A medio y a largo plazo la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados se correlaciona bien con su concentración en ácidos grasos de membrana (Orton HD, 2008).

Tabla 13. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos trans en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=33).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
tC18:1n9	0,45	0,23	0,033	0,35	0,14
tC18:2n6	0,06	0,14	ns	0,02	0,04

Se toman los valores medios encontrados para el grupo control y sus desviaciones estándares, tanto en los sueros como en los fosfolípidos de membranas para realizar el estudio comparativo. Estos valores son consecuencia de la dieta. Los seres humanos no pueden sintetizar los ácidos grasos trans, la alta ingesta de isómeros trans de ácidos grasos puede interferir con la disponibilidad de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFA) (Decsi, 2011).

Tabla 14. Sumas de las concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos por grupos en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=35).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
Σ sat CM	0,57	0,88	ns	0,35	0,96
Σ sat CL	38,61	10,91	0,001	46,33	3,99
Σ sat CML	4,04	1,94	0,000	7,74	1,30
Σ sat	43,23	11,53	0,000	54,42	4,57
Σ insat	56,27	11,44	0,000	45,20	4,61
Σ monoinsat	19,72	6,26	0,000	14,96	1,36
Σ poliinsat	36,94	7,04	0,000	30,43	4,40
Σ n-9	18,64	6,23	0,001	14,05	1,68
Σ n-6	30,31	7,70	0,001	24,34	4,30
Σ n-3	6,50	3,02	ns	5,86	2,22
Σ trans	0,50	0,28	0,017	0,37	0,14

Tabla 15. Índices entre los ácidos grasos en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=35). (SFA: saturados; MUFA: monoinsaturados; PUFA: poliinsaturados).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
SFA/MUFA	2,70	2,06	0,025	3,66	0,49
SFA/PUFA	1,29	0,78	0,002	1,85	0,53
n6/n3	5,55	2,66	ns	4,55	1,23
C16/C18:2	1,63	1,32	0,001	3,48	2,21
C18:2/C20:4	4,87	4,29	0,000	0,74	0,35

La falta de relación aparente entre los ácidos grasos en suero y fosfolípidos de membrana se debe a la presencia de los mismos en la dieta y a los complejos procesos que sufren éstos en el metabolismo celular (Figura 16).

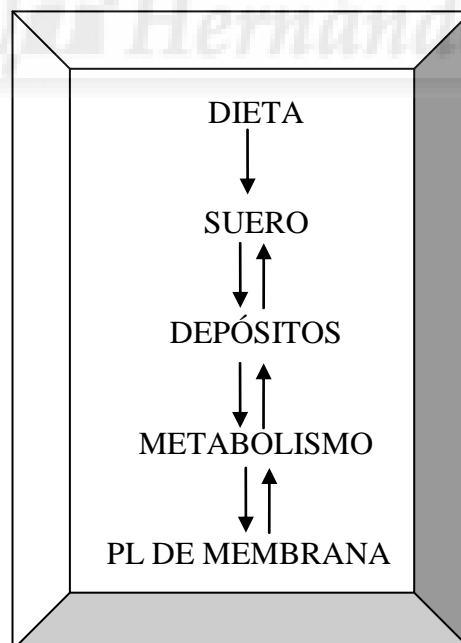


Figura 16. Factores que pueden influir en la concentración de ácidos grasos en sangre y en fosfolípidos de membranas.

Las concentraciones de ácidos grasos en suero sanguíneo son biomarcadores de la ingesta de grasas en la dieta (Uusitalo, 2011), mientras que las concentraciones de ácidos grasos en fosfolípidos de membrana, son el resultado de la ingesta de lípidos y el correcto funcionamiento del metabolismo lipídico, y por tanto reflejan mejor el estado del organismo respecto al metabolismo de ácidos grasos (Jakobik, 2009).

Con todo ello, parece que se puede hacer más directamente la asociación entre la ingesta de los sujetos y la composición lipídica analizando el perfil de los mismos en suero, mientras que el estado de los depósitos tisulares causados por la dieta a largo plazo y la situación metabólica estar más acorde con los niveles de los ácidos grasos presentes en estructuras más estables como los fosfolípidos de las membranas celulares (Aguilar, 2010). La composición de ácidos grasos de los lípidos de membrana de eritrocitos puede reflejar mejor la composición general de ácidos grasos del organismo que la composición de ácidos grasos de los lípidos plasmáticos (Jakobik, 2009). Efectivamente, en los datos presentes se observa una diferencia significativa en la práctica totalidad de los niveles de ácidos grasos en suero y en los fosfolípidos de las membranas de eritrocitos.

Con estos valores de normalidad de los ácidos grasos, se puede iniciar el estudio comparativo de los mismos en ambas muestras, suero y fosfolípidos de membrana, en diferentes situaciones patológicas o carenciales en las que puedan estar afectados.

4.2. CORRELACIÓN ENTRE CADA ÁCIDO GRASO EN SUERO Y EN LOS FOSFOLÍPIDOS DE MEMBRANAS CELULARES.

Con el fin de confirmar el hecho apuntado en el grupo control, de la no igualdad entre las concentraciones de cada ácido graso en suero y sus correspondientes en los fosfolípidos de las membranas celulares se ha realizado el estudio de los valores entre ambas muestras de forma pareada en todos los casos en los que se poseen ambas muestras (suero y fosfolípidos de membranas, n=350), estando representados los valores en las tablas siguientes:

Tabla 16. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos saturados en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
C6	0,00	0,01	0,008	0,01	0,00
C8	0,05	0,12	0,000	0,13	0,23
C10	0,07	0,13	0,000	0,15	0,26
C12	0,39	0,67	0,025	0,30	0,46
C14	1,34	0,88	0,000	0,99	0,82
C16	28,05	4,83	0,000	29,49	5,18
C18	11,18	2,72	0,000	22,22	4,18
C20	0,30	0,20	0,000	0,51	0,30
C22	1,02	0,73	0,000	2,07	1,12
C24	0,86	0,85	0,000	4,13	1,84
C26	0,11	0,32	0,001	0,27	0,72

Tabla 17. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos monoinsaturados en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
C12:1	0,20	0,12	0,000	0,13	0,42
C14:1n5	0,04	0,07	0,000	0,21	0,49
C16:1n7	0,87	0,53	0,000	0,44	0,66
C18:1n9	16,95	4,22	0,000	8,87	2,70
C20:1n15	0,10	0,12	0,000	0,22	0,36
C20:1n9	0,25	0,19	0,000	0,38	0,40
C22:1n9	1,88	2,69	0,000	0,56	0,74
C24:1n9	1,34	0,84	0,000	4,17	2,01

Los valores son muy similares a los valores del grupo control. Se observa un valor superior de ácido oleico en suero, y a pesar de ello, el valor en fosfolípidos de membrana es significativamente inferior.

Tabla 18. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos insaturados n-6 en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
C18:2n6	23,59	6,47	0,000	6,69	2,40
C18:3n6	0,35	0,37	ns	0,36	1,04
C20:2n6	0,27	0,66	ns	0,28	0,46
C20:3n6	1,26	0,55	0,000	1,02	0,62
C20:4n6	5,94	2,17	0,000	9,41	3,67
C22:2n6	0,09	0,45	ns	0,14	0,33
C22:4n6	0,23	0,45	0,000	1,63	0,94

El ácido graso mayoritario es el ácido linoleico, cuyo valor porcentual, a pesar de que en suero es significativamente superior al del grupo control, en fosfolípidos de membrana aparece disminuido, lo que está relacionado con una serie de trastornos metabólicos (Górska, 2000).

Tabla 19. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos insaturados n-3 en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
C18:3n3	0,26	0,50	ns	0,26	0,53
C20:3n3	0,02	0,07	0,000	0,10	0,18
C20:5n3	0,43	1,45	ns	0,31	0,64
C22:3n3	0,03	0,10	0,011	0,19	1,12
C22:5n3	0,37	0,34	0,000	1,03	0,82
C22:6n3	1,39	0,89	0,000	2,69	2,00

Tabla 20. Concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos trans en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
tC18:1n9	0,96	0,67	0,000	0,61	0,47
tC18:2n6	0,03	0,09	0,000	0,14	0,48

Los ácidos grasos trans se ven aumentados, tanto en suero como en fosfolípidos de membrana, lo que se debe sólo a la dieta.

Las lesiones ateroscleróticas son más extensas después de la alimentación rica en ácidos grasos trans. Éstos son aterogénicos por su propia cuenta. Se ha asociado la concentración en suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos grasos trans a la dieta, en enfermos con este tipo de lesiones (Bassett, 2009). El consumo de grandes

cantidades de AGT, tiene un nivel de riesgo comparable a la ingesta de AGS. Las consecuencias son inhibición del metabolismo de los PUFAs, entre otras.

Tabla 21. Sumas de las concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos por grupos en suero y fosfolípidos de membrana en el total de la muestra (n= 350).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
Σ sat CM	0,50	0,79	ns	0,57	0,74
Σ sat CL	40,53	7,61	0,000	53,10	9,06
Σ sat CML	1,93	1,32	0,000	6,35	2,46
Σ sat	43,20	7,15	0,000	60,17	7,98
Σ insat	55,81	7,02	0,000	39,08	7,85
Σ monoinsat	21,34	4,96	0,000	15,12	3,78
Σ poliinsat	33,32	7,90	0,000	23,95	7,00
Σ n-9	20,36	4,75	0,000	14,00	3,12
Σ n-6	31,47	7,40	0,000	19,51	5,63
Σ n-3	2,45	1,85	0,000	4,70	3,14
Σ trans	0,99	0,70	0,000	0,75	0,71

Tabla 22. Índices entre los ácidos grasos en suero y fosfolípidos de membrana en el grupo control (n=350).

ÁG (%p/p)	Suero		T-test valores pareados	Fosfolípidos membranas	
	Media	SD	p	Media	SD
SFA/MUFA	2,31	1,57	0,000	4,35	1,96
SFA/PUFA	1,59	1,43	0,000	2,97	2,01
n6/n3	19,71	19,10	0,000	6,08	5,58
C16/C18:2	5,39	30,28	0,000	6,95	12,68
C18:2/C20:4	4,85	4,17	ns	0,95	1,43

Los valores SFA/MUFA y SFA/PUFA son muy similares a los del grupo control, la contribución porcentual de la SFA, MUFA y PUFA no varía a través de la suplementación de aceite de pescado (Sanchez-Muniz, 1999).

En el caso que se estudia, el valor n6/n3 en suero está muy aumentado respecto al grupo control. El consumo de AGPI se relaciona con un mejor desarrollo neurológico y cognitivo. El consumo de n-6 y n-3 PUFAs aumenta la oxidación de ácidos grasos. La FAO / OMS recomienda una ingesta óptima diaria de n6/n3 de 5-10:1 (Rodríguez-Cruz, 2005).

Por último, y visto que son diferentes las concentraciones de los ácidos grasos entre ambas muestras, se puede observar si existe alguna correlación para cada ácido graso entre su concentración en suero y en fosfolípidos de membrana, con este fin se ha realizado el estudio de correlación de Pearson en el total de las muestras analizadas apareando las muestras de suero y las de sus correspondientes fosfolípidos de membranas celulares (n = 350), estando expresados los valores encontrados en las tablas siguientes:

Tabla 23. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos saturados en el total de la muestra (n= 350).

ÁCIDO GRASO (%p/p)	r	p
C6	0,075	ns
C8	0,089	ns
C10	0,042	ns
C12	0,215	0,000
C14	0,145	0,007
C16	0,500	0,000
C18	0,243	0,000
C20	0,048	ns
C22	0,177	0,001
C24	0,174	0,001
C26	0,177	0,009

El valor del ácido graso C16 es el único de la lista que cabe resaltar por su correlación en suero y fosfolípidos de membrana, debido probablemente a que el ácido palmítico es el final de la síntesis de ácidos grasos mediante el complejo ácido graso sintetasa y después es alargado por sistemas de elongación.

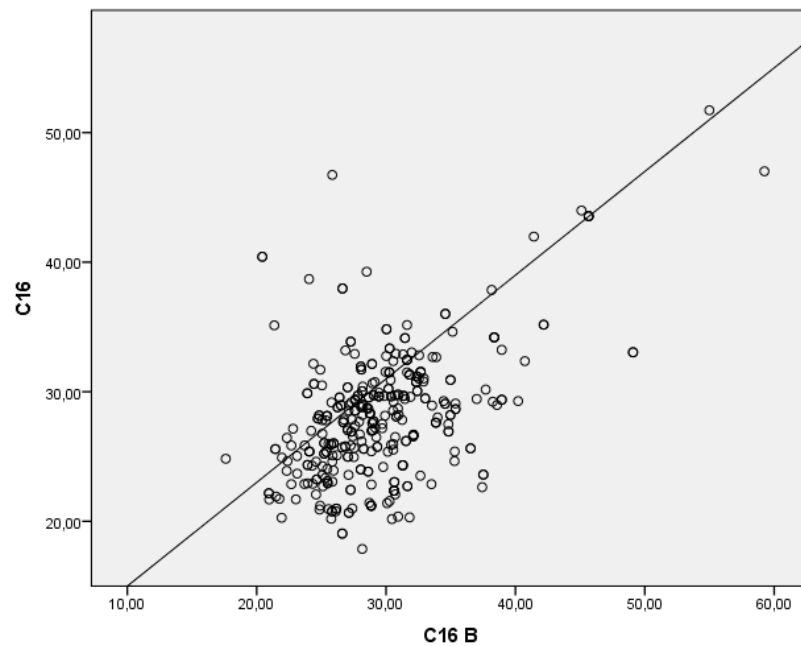


Figura 17. Correlación entre C16 en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.

Tabla 24. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos grasos monoinsaturados en el total de la muestra (n= 350).

ÁCIDO GRASO (%p/p)	r	p
C12:1	0,01	ns
C14:1n5	0,096	ns
C16:1n7	0,068	ns
C18:1n9	0,029	ns
C20:1n15	0,160	0,003
C20:1n9	0,016	ns
C22:1n9	-0,039	ns
C24:1n9	0,188	0,009

En este caso, no hay ninguna correlación entre los valores en suero y fosfolípidos de membrana.

Tabla 25. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos grasos insaturados n-6 en el total de la muestra (n= 350).

ÁCIDO GRASO (%p/p)	r	p
C18:2n6	0,192	0,000
C18:3n6	0,214	0,000
C20:2n6	-0,006	ns
C20:3n6	0,332	0,000
C20:4n6	0,190	0,000
C22:2n6	-0,022	ns
C22:4n6	0,147	0,006

No hay existe correlación entre los valores en suero y fosfolípidos de membrana.

Tabla 26. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos grasos insaturados n-3 en el total de la muestra (n= 350).

ÁCIDO GRASO (%p/p)	r	p
C18:3n3	0,007	ns
C20:3n3	0,005	ns
C20:5n3	0,682	0,000
C22:3n3	-0,022	ns
C22:5n3	0,161	0,002
C22:6n3	0,448	0,000

El ácido eicosapentaenoico es el único de la lista en el que su valor en suero correlaciona con su valor en fosfolípidos de membrana

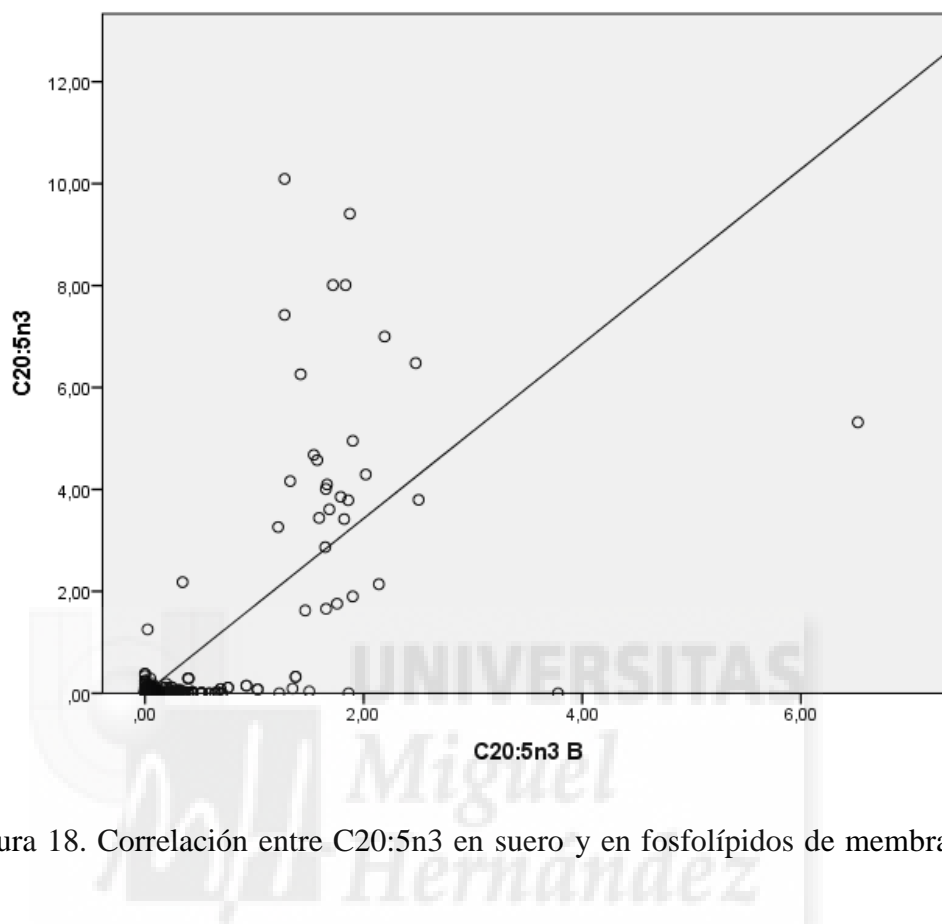


Figura 18. Correlación entre C20:5n3 en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.

Tabla 27. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos grasos trans en el total de la muestra (n= 350).

ÁCIDO GRASO (%p/p)	r	p
tC18:1n9	0,355	0,000
tC18:2n6	0,014	ns

Tabla 28. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de las sumas de las concentraciones de los ácidos grasos por grupos en el total de la muestra (n= 350).

ÁCIDO GRASO (%p/p)	r	p
∑ sat CM	0,146	0,006
∑ sat CL	0,292	0,000
∑ sat CML	0,267	0,000
∑ sat	0,229	0,000
∑ monoinsat	0,086	0,000
∑ poliinsat	0,230	0,000
∑ insat	0,217	0,000
∑ n-9	0,141	0,008
∑ n-6	0,174	0,001
∑ n-3	0,210	0,000
∑ trans	0,266	0,000

Se observan correlaciones generalmente pobres, aunque muy significativas entre los valores de los ácidos grasos en suero y membranas celulares, respondiendo posiblemente sus concentraciones de distinta forma temporalmente a la dieta, que debe ser el principal factor modificador en suero de los mismos en situaciones de normalidad.

Con el fin de presentar con mayor detalle estas correlaciones entre los valores en suero y fosfolípidos de membranas, se presentan las distribuciones, junto con la recta ajustada:

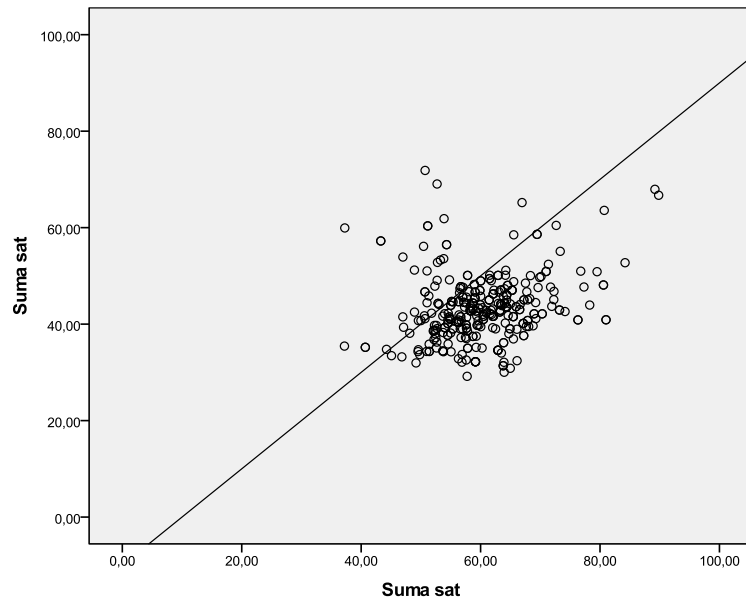


Figura 19. Correlación entre la suma de ácidos grasos saturados en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.

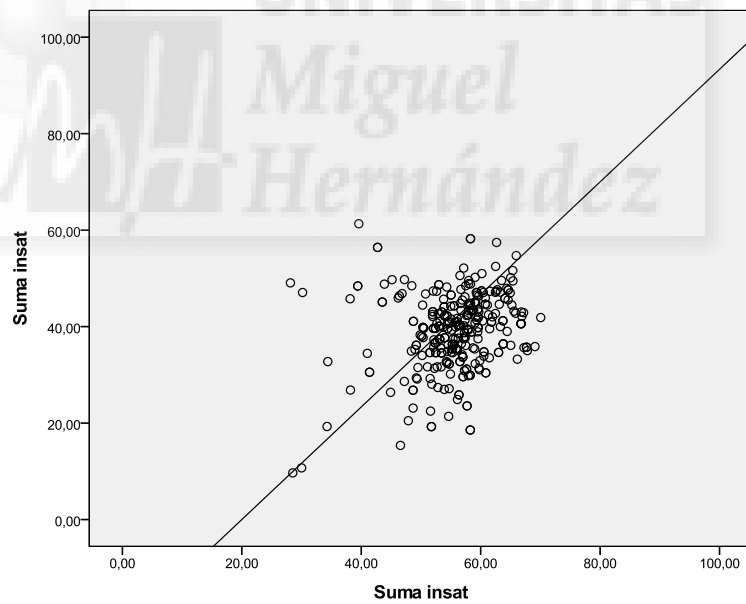


Figura 20. Correlación entre la suma de ácidos grasos insaturados en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.

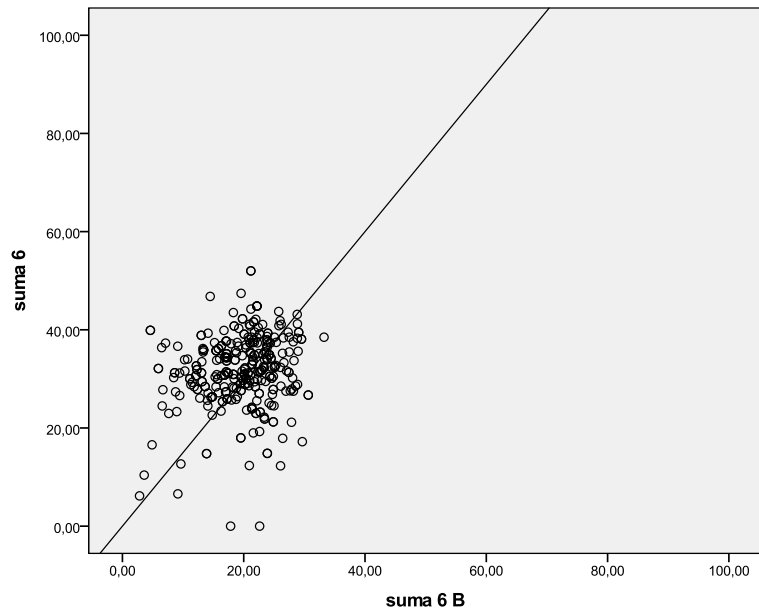


Figura 21. Correlación entre la suma de ácidos grasos insaturados n-6 en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.

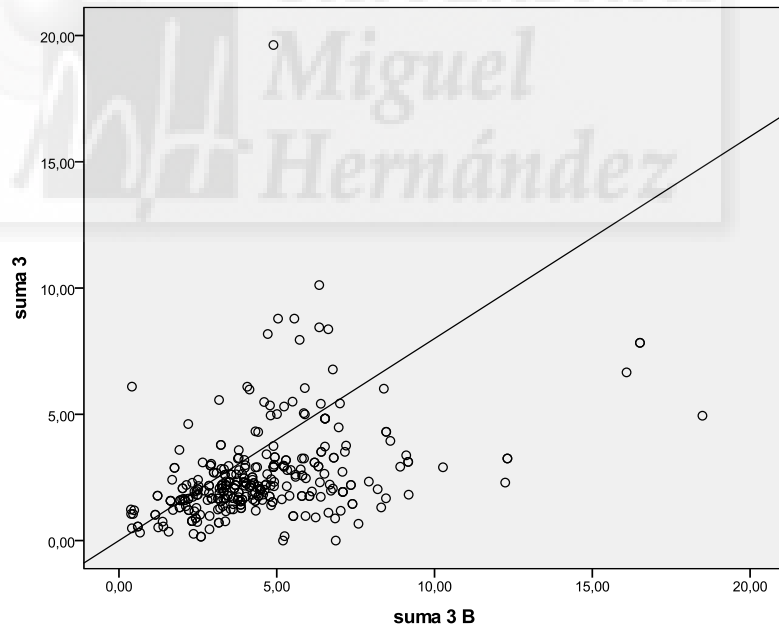


Figura 22. Correlación entre la suma de ácidos grasos insaturados n-6 en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.

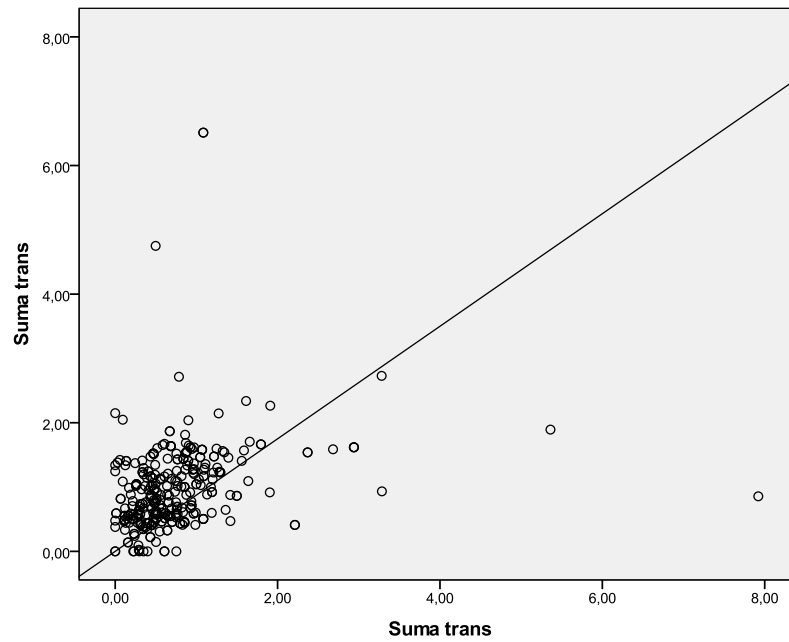


Figura 23. Correlación entre la suma de ácidos grasos insaturados n-6 en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.

También se han estudiado las correlaciones entre diferentes índices, cuyos datos se muestran a continuación:

Tabla 29. Correlaciones entre suero y fosfolípidos de membrana de los índices de los grupos de ácidos grasos en el total de la muestra (n= 350).

ÁCIDO GRASO (%p/p)	r	p
SFA/MUFA	0,153	0,004
SFA/PUFA	0,501	0,000
n6/n3	0,256	0,000
C16/C18:2	0,621	0,000
C18:2/C20:4	0,016	ns

Y las gráficas de las dos correlaciones con $r > 0,05$:

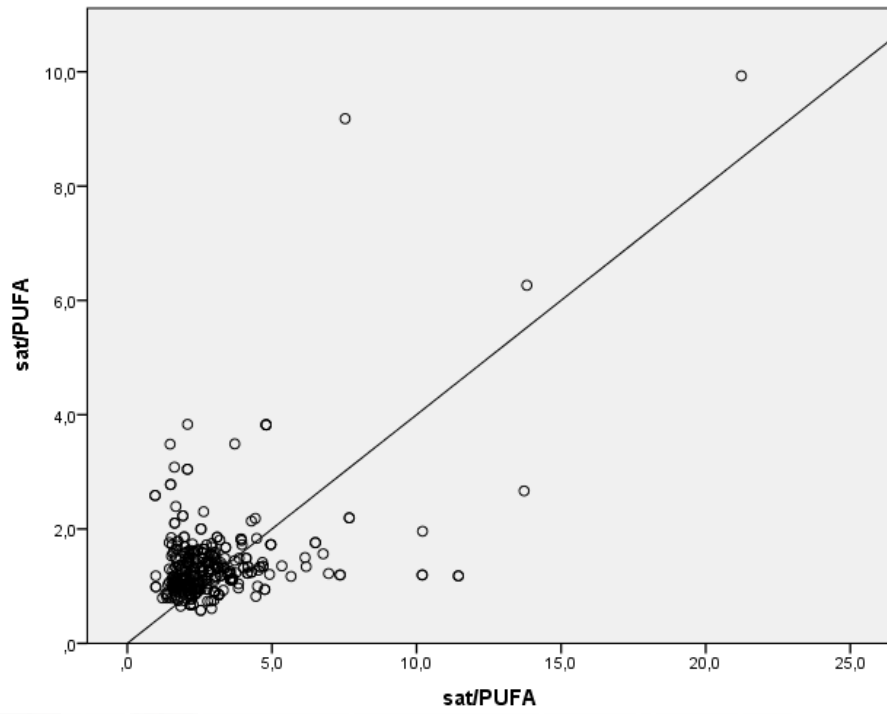


Figura 24. Correlación entre el índice Sat/PUFA en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.

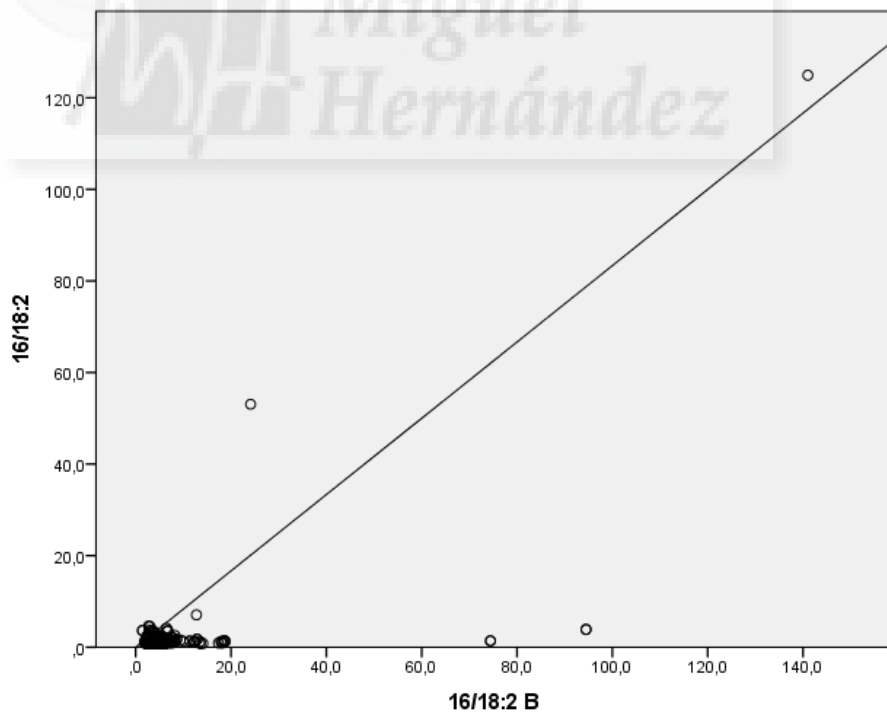


Figura 25. Correlación entre el índice C16/C18:2 en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.

Así, los niveles de ácidos grasos en suero, estarían más directamente relacionados con su ingesta en la dieta a corto plazo, y por tanto, del equilibrio en la dieta del paciente. La concentración de estos ácidos grasos en los fosfolípidos de las membranas celulares sería el resultado de la combinación entre la dieta a largo plazo, y el metabolismo celular de intercambio entre los mismos (Figura 16). Podrían estar influidos tanto por la ingesta directa o de sus precursores y de los niveles de normalidad de las enzimas que forman parte del metabolismo de los ácidos grasos.

En principio, por tanto a la hora de evaluar posibles variaciones con estados patológicos o nutricionales no sería suficiente con su evaluación en suero o en los fosfolípidos de membranas. Más bien, parece aconsejable la combinación de las dos evaluaciones.

4.3. EVALUACIÓN NIVELES DE ÁCIDOS GRASOS EN SUERO Y FOSFOLÍPIDOS DE MEMBRANA EN NIÑOS CON SOSPECHA DE TRASTORNO DEL METABOLISMO DE ÁCIDOS GRASOS.

Previamente a la comparación entre los valores de cada ácido graso entre el grupo control y el grupo analizado con sospecha de trastorno del metabolismo, se procede a efectuar la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de la distribución de los valores de los mismos. La calificación de la distribución de cada ácido graso está expresada en las siguientes tablas:

Tabla 30. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control y grupo sospecha según test de Kolmogorov-Smirnov de los ácidos grasos saturados (n, distribución normal; nn distribución no normal).

ÁG	Suero control	PL control	Suero sospecha	PL sospecha
C6	nn	nn	nn	nn
C8	nn	nn	nn	nn
C10	nn	n	nn	nn
C12	nn	nn	nn	nn
C14	nn	n	nn	nn
C16	nn	n	nn	nn
C18	nn	n	nn	nn
C20	nn	n	nn	n
C22	n	n	nn	nn
C24	nn	n	nn	nn
C26	nn	n	nn	nn

Una distinta distribución de ácidos grasos saturados en fosfolípidos de membrana del grupo sospecha, hace inferir una estrecha relación con la inflamación. En consecuencia, la fluidez de membrana se altera (Kim J, 2010).

Tabla 31. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control y grupo sospecha según test de Kolmogorov-Smirnov de los ácidos grasos monoinsaturados (n, distribución normal; nn distribución no normal).

ÁG	Suero control	PL control	Suero sospecha	PL sospecha
C12:1	nn	nn	nn	nn
C14:1n5	nn	nn	nn	nn
C16:1n7	n	nn	nn	nn
C18:1n9	n	n	nn	nn
C20:1n15	nn	nn	nn	nn
C20:1n9	n	nn	nn	nn
C22:1n9	n	nn	nn	nn
C24:1n9	nn	n	nn	n

Tabla 32. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control y grupo sospecha según test de Kolmogorov-Smirnov de los ácidos grasos insaturados n-6 (n, distribución normal; nn distribución no normal).

ÁG	Suero control	PL control	Suero sospecha	PL sospecha
C18:2n6	n	n	nn	nn
C18:3n6	nn	nn	nn	nn
C20:2n6	nn	nn	nn	nn
C20:3n6	n	n	n	n
C20:4n6	n	n	n	n
C22:2n6	nn	nn	nn	nn
C22:4n6	nn	n	nn	n

Hay una afinidad in vivo de la enzima $\Delta 6$ desaturasa 3,2 veces mayor hacia el ácido graso C18:3n3 sobre C18:2n6 y una afinidad de la enzima $\Delta 5$ desaturasa 8 veces mayor hacia C20:4n3 sobre C20:3n6 (Thanuthong, 2011). Ello podría explicar la distribución de normalidad del ácido graso C20:3n6 en el grupo control y en el grupo con sospecha de metabolopatía e incluso del ácido graso C20:4n6.

Tabla 33. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control según test de Kolmogorov-Smirnov de los ácidos grasos insaturados n-3 (n, distribución normal; nn distribución no normal).

ÁG	Suero control	PL control	Suero sospecha	PL sospecha
C18:3n3	nn	nn	nn	nn
C20:3n3	nn	nn	nn	nn
C20:5n3	n	nn	nn	nn
C22:3n3	nn	nn	nn	nn
C22:5n3	nn	n	nn	nn
C22:6n3	n	n	nn	nn

Una alteración en la composición de ácidos grasos esenciales y semiesenciales en fosfolípidos de membrana, parece ser debido a las diferencias en la ingesta de ácidos grasos omega 3, previo a las alteraciones en el metabolismo de ácidos grasos esenciales (Hibbeln, 2003).

Tabla 34. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control según test de Kolmogorov-Smirnov de los ácidos grasos trans (n, distribución normal; nn distribución no normal).

ÁG	Suero control	PL control	Suero sospecha	PL sospecha
tC18:1n9	n	n	nn	nn
tC18:2n6	nn	nn	nn	nn

Tabla 35. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control según test de Kolmogorov-Smirnov de los grupos de ácidos grasos (n, distribución normal; nn distribución no normal).

AG	Suero control	PL control	Suero sospecha	PL sospecha
Σ sat CM	nn	nn	nn	nn
Σ sat CL	n	nn	nn	nn
Σ sat CML	n	n	nn	nn
Σ sat	n	n	nn	nn
Σ insat	n	n	nn	n
Σ n-9	n	n	nn	nn
Σ monoinsat	n	n	nn	nn
Σ poliinsat	n	n	nn	n
Σ n-6	n	n	nn	n
Σ n-3	n	n	nn	nn
Σ trans	n	n	nn	nn

Tabla 36. Criterio de normalidad de la distribución de los valores del grupo control según test de Kolmogorov-Smirnov de los índices de ácidos grasos (n, distribución normal; nn distribución no normal).

ÁG	Suero control	PL control	Suero sospecha	PL sospecha
SFA/MUFA	nn	n	nn	nn
SFA/PUFA	nn	nn	nn	nn
n6/n3	n	n	nn	nn
C16/C18:2	nn	nn	nn	nn
C18:2/C20:4	nn	n	nn	nn

Se realizó el estudio comparativo de todos los ácidos grasos analizados, tanto en suero como en los fosfolípidos de membrana entre los valores previamente descritos en el grupo control y el grupo de n = 374 pacientes pediátricos con sospecha de enfermedad metabólica mediante el test U de Mann-Whitney dado que la mayoría de los ácidos grasos no presentan una distribución normal según se aprecia en las tablas anteriores. En las siguientes tablas están expresados dichos valores y el valor de la p del estudio comparativo entre los valores de ambos grupos.

Tabla 37. Concentraciones (% p/p)(media, SD) de los ácidos grasos saturados en suero y fosfolípidos de membrana del grupo de pacientes con sospecha de metabolopatía (SM) (n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo control mediante el test U de Mann-Whitney.

AG (%p/p)	Suero			PL membranas		
	SM	control	U M-W	SM	control	U M-W
C6	0,00 (0,01)	0,01 (0,03)	0,000	0,01 (0,03)	0,00 (0,00)	0,004
C8	0,08 (0,32)	0,14 (0,29)	0,000	0,16 (0,33)	0,04 (0,07)	0,000
C10	0,07 (0,13)	0,12 (0,17)	ns	0,19 (0,33)	0,05 (0,06)	0,000
C12	0,39 (0,66)	0,31 (0,57)	0,000	0,32 (0,41)	0,26 (0,95)	0,000
C14	1,29 (0,64)	1,56 (2,15)	0,004	1,04 (0,83)	0,45 (0,25)	0,000
C16	29,02 (6,76)	24,89 (6,19)	0,000	29,43 (5,93)	25,92 (2,11)	0,000
C18	11,34 (3,34)	11,78 (4,57)	ns	22,08 (4,77)	19,77 (2,04)	0,000
C20	0,31 (0,15)	0,38 (0,55)	0,022	0,54 (0,28)	0,19 (0,35)	0,000
C22	0,87 (0,47)	2,68 (0,98)	0,000	2,11 (1,26)	2,29 (0,55)	0,045
C24	0,86 (0,84)	1,15 (1,62)	ns	4,06 (1,95)	4,79 (0,69)	0,017
C26	0,08 (0,29)	0,20 (0,40)	0,000	0,19 (0,65)	0,66 (0,84)	0,000

La existencia de una mayor concentración de ácidos grasos saturados en la membrana eritrocitaria de los sujetos determinará el desarrollo de alteraciones en la misma, afectando fundamentalmente a la fluidez y grado de rigidez de ésta (Hon, 2009).

El alto consumo de grasa dietética total, especialmente grasas saturadas, está asociado con un mayor riesgo de síndrome metabólico. La relación, al parecer, está influenciada por el hábito dietético del individuo (Hekmatdoost, 2011)

Hay un aumento simultáneo de ácidos grasos saturados, principalmente ácido palmítico en suero, ácido esteárico y palmítico en fosfolípidos de membrana, lo que se asocia con una serie de trastornos metabólicos y trastornos de lípidos (Górska, 2000).

Tabla 38. Concentraciones (% p/p)(media, SD) de los ácidos grasos monoinsaturados en suero y fosfolípidos de membrana del grupo de pacientes con sospecha de metabolopatía (SM)(n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo control mediante el test U de Mann-Whitney.

AG (%p/p)	Suero		PL membranas			
	SM	control	SM	control	U M-W	
C12:1	0,02 (0,07)	0,11 (0,37)	ns	0,12 (0,138)	0,61 (1,11)	0,011
C14:1n5	0,06 (0,12)	0,03 (0,10)	0,000	0,26 (0,57)	0,02 (0,03)	0,000
C16:1n7	0,90 (0,54)	0,57 (0,44)	0,000	0,48 (0,70)	0,26 (0,61)	0,001
C18:1n9	16,99 (4,61)	13,22 (3,83)	0,000	8,73 (2,91)	9,43 (1,26)	0,010
C20:1n15	0,12 (0,14)	0,09 (0,26)	0,000	0,28 (0,49)	0,02 (0,04)	0,000
C20:1n9	0,26 (0,19)	0,22 (0,21)	ns	0,47 (0,54)	0,05 (0,07)	0,000
C22:1n9	1,64 (2,30)	3,79 (4,51)	ns	0,67 (0,89)	0,09 (0,17)	0,000
C24:1n9	1,36 (0,85)	1,42 (1,36)	0,045	4,12 (2,13)	4,48 (0,79)	ns

Los ácidos grasos monoinsaturados de la dieta, mejoran la resistencia a la insulina y los factores de riesgo metabólicos. Alivian el síndrome metabólico, ya que dan lugar a cambios favorables en la expresión de mRNA de los genes implicados en el metabolismo de glucosa y lípidos, así como la inflamación y alteraciones en la composición de ácidos grasos (Yang ZH, 2011).

Las intervenciones nutricionales pueden mejorar el perfil de plasma de ácidos grasos y los resultados metabólicos (Verduci, 2011).

Tabla 39. Concentraciones (% p/p)(media, SD) de los ácidos grasos insaturados n-6 en suero y fosfolípidos de membrana del grupo de pacientes con sospecha de metabolopatía (SM)(n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo control mediante el test U de Mann-Whitney.

AG (%p/p)	Suero			PL membranas		
	SM	control	U M-W	SM	control	U M-W
C18:2n6	21,62 (7,26)	21,37 (8,96)	ns	6,45 (2,68)	8,53 (2,55)	0,000
C18:3n6	0,39 (0,38)	0,04 (0,13)	0,000	0,50 (1,50)	0,01 (0,02)	0,000
C20:2n6	0,26 (0,33)	0,74 (2,04)	0,009	0,36 (0,65)	0,05 (0,08)	0,000
C20:3n6	1,28 (0,56)	0,93 (0,48)	0,001	1,07 (0,71)	0,84 (0,38)	ns
C20:4n6	5,81 (2,21)	6,24 (3,92)	ns	9,13 (3,72)	12,55 (3,23)	0,000
C22:2n6	0,08 (0,17)	0,52 (1,47)	ns	0,20 (0,46)	0,02 (0,02)	0,000
C22:4n6	0,24 (0,39)	0,48 (1,06)	0,006	1,58 (0,95)	2,34 (0,85)	0,000

Los valores significativamente más altos de n-6 de cadena larga de ácidos grasos poliinsaturados (LCP) en los lípidos plasmáticos de los pacientes con sospecha de metabolopatía, que en los controles puede ser causada por un aumento de la actividad de la delta 6-desaturación. En ayunas, es posible que pueda estimularse la síntesis de ácidos grasos n6 (Decsi, 1996).

Se han representado en la siguiente figura los valores de los ácidos grasos n-6 más importantes cuantitativamente, linoléico y araquidónico, comparándolos con sus correspondientes concentraciones en el grupo control, tanto en suero como en los fosfolípidos de membranas.

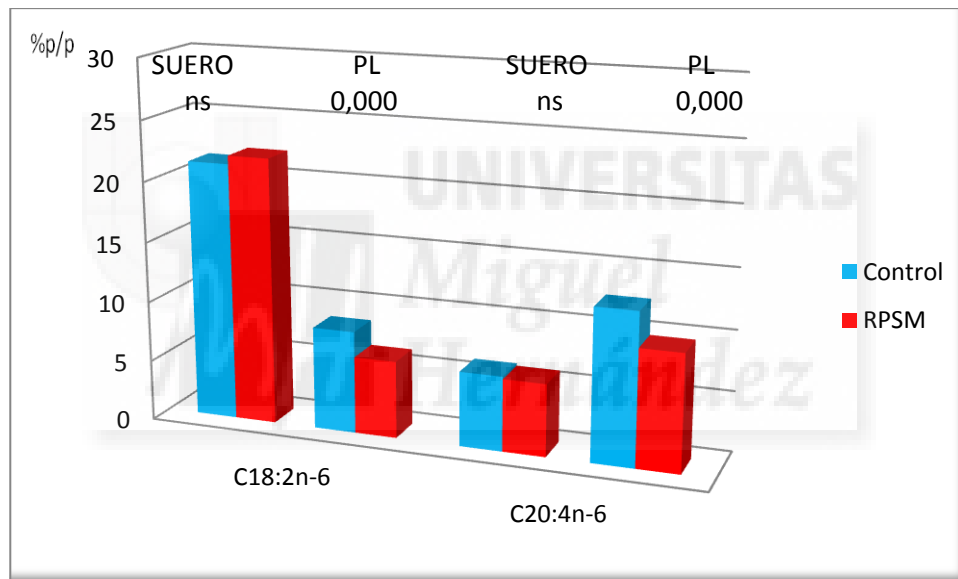


Figura 26. Comparación entre las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de linoléico y araquidónico entre el grupo de sospecha de metabolopatía y el grupo control.

En esta gráfica, se observa que tanto el ácido linoléico como el araquidónico, tiene una media muy próxima en el grupo de RPSM respecto al grupo control, muy poco inferior, no siendo significativa dicha diferencia a excepción del araquidónico en fosfolípidos de membranas que es significativa ($p < 0,05$). Así, los niveles de ácidos grasos n-6 no estarían alterados por la dieta y existiría una pequeña disminución de los mismos en los fosfolípidos de la membrana celular causada por una dieta a largo plazo o

bien por un reajuste en su metabolismo final. El ácido araquidónico se encuentra disminuido en fosfolípidos de membrana, aunque los valores en suero son similares a los del grupo control. Esto puede ser índice de actividad de enfermedad inflamatoria (Sundström, 2012). La disminución del contenido de estos ácidos en la membrana celular produce alteraciones en la función celular al modificar la fluidez de la membrana, por ejemplo en retina y cerebro participan en la neurotransmisión cerebral (Farooqui, 2011). Las deficiencias de estos ácidos grasos esenciales están asociadas con la pérdida de pelo, piel seca, queratosis folicular, diarrea, eczema, fatiga, agresión, pelo seco quebradizo, caspa, régimen de comida irregular, sed excesiva, los cálculos biliares, deficiencias en el crecimiento, deficiencia inmune e hiperactividad, algunas de ellas propias de niños con retraso psicomotor.

Por otra parte, la reducción de los niveles de la membrana de AA no parecen ser patognomónicas de este tipo de pacientes. Las variaciones en los niveles de ácidos grasos de la membrana celular pueden reflejar, más bien, anomalías subyacentes a los fosfolípidos y el metabolismo de los ácidos grasos y su interacción con factores ambientales, incluyendo la medicación y la dieta (Peet, 2004).

Tabla 40. Concentraciones (% p/p)(media, SD) de los ácidos grasos insaturados n-3 en suero y fosfolípidos de membrana del grupo de pacientes con sospecha de metabolopatía (n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo control mediante el test U de Mann-Whitney.

AG (%p/p)	Suero			PL membranas		
	SM	control	U M-W	SM	control	U M-W
C18:3n3	0,26 (0,24)	0,48 (1,60)	0,000	0,31 (0,58)	0,04 (0,12)	0,000
C20:3n3	0,05 (0,23)	0,04 (0,18)	0,015	0,13 (0,29)	0,01 (0,02)	0,000
C20:5n3	0,08 (0,45)	4,31 (2,51)	0,000	0,22 (0,58)	1,83 (0,96)	0,000
C22:3n3	0,06 (0,18)	0,05 (0,12)	ns	0,24 (1,16)	0,03 (0,04)	ns
C22:5n3	0,38 (0,35)	0,47 (0,80)	ns	1,10 (1,04)	0,80 (0,45)	ns
C22:6n3	1,42 (0,96)	1,15 (0,76)	ns	2,65 (1,95)	3,14 (2,15)	ns

Del mismo modo se han representado las concentraciones de linolénico, eicosapentanoico y docosahexanoico, en ambas muestras y comparándolas con los valores en el grupo control.

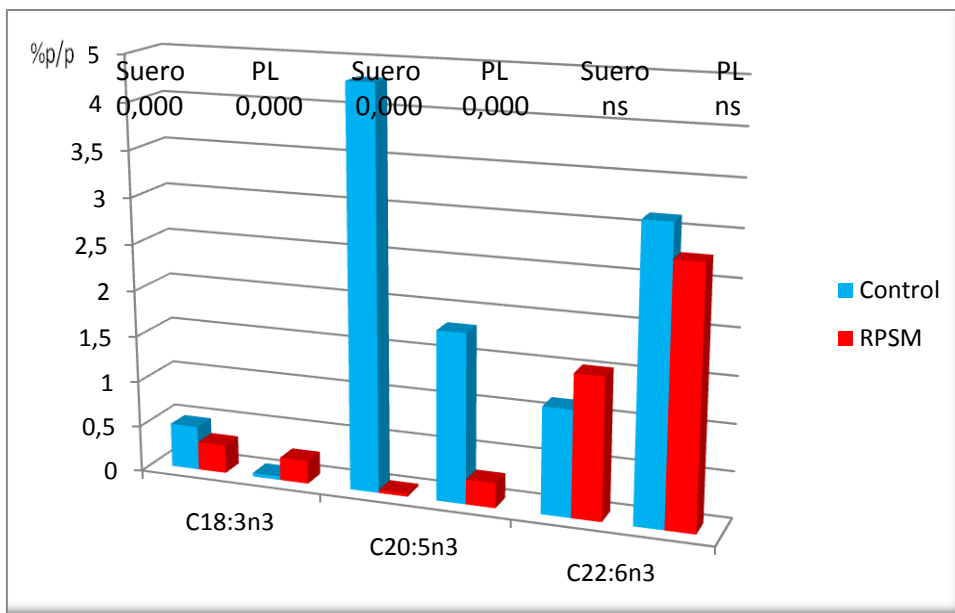


Figura 27. Comparación entre las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de ácido linolénico, eicosapentanoico y docosahexanoico entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control.

Cuando se compara la media de las concentraciones de ácidos grasos n-3, en el grupo RPSM, los pacientes siguen mostrando niveles más bajos que los del grupo control, aunque en este caso, las diferencias son significativamente mayores que en el grupo de los ácidos de la familia n-6, siendo la diferencia muy grande en el ácido eicosapentanoico, tanto en suero como en fosfolípidos. En este caso, los niveles estarían afectados por la dieta a corto y establecida a largo plazo, como dieta cotidiana, ya que la diferencia de niveles está marcada tanto en suero como en fosfolípidos de membrana. La ingesta de este tipo de ácidos grasos sería deficiente, al no conocerse ninguna alteración metabólica en los pacientes estudiados. La disminución o pérdida de estos ácidos se asocia a cambios en la visión, olfatorios y cognitivos y pérdidas de memoria espacial (Salem, 2001). La importancia de estos ácidos grasos en la función neurológica normal podría causar un incremento en la causas del retraso psicomotor, por lo que sería aconsejable un estudio en profundidad de la dieta de estos niños y el incremento en la misma de los ácidos grasos n-3, con el fin de evitar un daño sobreañadido.

La dislipidemia, el estrés oxidativo y la inflamación son los principales factores de riesgo del síndrome metabólico, así como la obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes, todo ello debido probablemente a la conversión relativamente ineficaz de ácido linolénico en ácido eicosapentaenoico y docosahexaenoico en la ruta metabólica de los seres humanos (Poudyal, 2011).

Las correlaciones más fuertes y más constantes han sido encontradas entre la memoria inmediata y la concentración de n-3 PUFAs en fosfolípidos de membrana (Chiu, 2012). En este caso, el valor que disminuye significativamente respecto al grupo control es el valor del ácido EPA, tanto en suero como en fosfolípidos de membrana, aunque en suero, esta diferencia es aún más significativa. Ello está relacionado con la dieta (Burrows, 2012).

Así, la suplementación en la dieta con ácido linolénico o eicosapentaenoico, tienen poco efecto sobre los niveles en sangre de ácido docosahexaenoico, mientras que el consumo directo de ácido docosahexaenoico, es eficaz en el aumento de los niveles sanguíneos de este ácido graso (Brenna, 2009), lo que coincide con un fallo en la ruta metabólica, en este tipo de pacientes, de ácido linoleico a eicosapentaenoico, y de éste, a docosahexaenoico.

Es posible una relación entre elongasas, las enzimas responsables de la elongación de los ácidos grasos poliinsaturados en sus derivados de cadena larga, y los pacientes con alteraciones neurológicas (Mamalakis, 2004). En estos pacientes, parece que hay una actividad creciente de elongasas, lo que puede ser debido a una posible sobre-expresión del gen que codifica una proteína responsable de la elongación de cadena larga de ácidos grasos poliinsaturados.

A este respecto, cabe resaltar la influencia de la dieta de sobre el metabolismo de los ácidos grasos: la ingesta de determinados alimentos como el queso, pueden producir un efecto inhibitorio de desaturasas, la $\Delta 9$ -desaturasa y $\Delta 5$ -desaturasa alterando los índices que reflejan la desaturación de ácidos grasos, proporcionando así una explicación para la asociación negativa entre el consumo de queso y los triglicéridos (Høstmark, 2012).

Tabla 41. Concentraciones (% p/p) (media, SD) de los ácidos grasos trans en suero y fosfolípidos de membrana del grupo de pacientes con sospecha de metabolopatía (n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo control mediante el test U de Mann-Whitney.

AG (%p/p)	Suero			PL memb		
	SM	control	U M-W	SM	control	U M-W
tC18:1n9	1,02 (0,68)	0,45 (0,23)	0,000	0,67 (0,58)	0,35 (0,14)	0,000
tC18:2n6	0,04 (0,16)	0,06 (0,14)	ns	0,20 (0,66)	0,02 (0,04)	0,014

También se han representado en la figura siguiente los ácidos grasos trans:

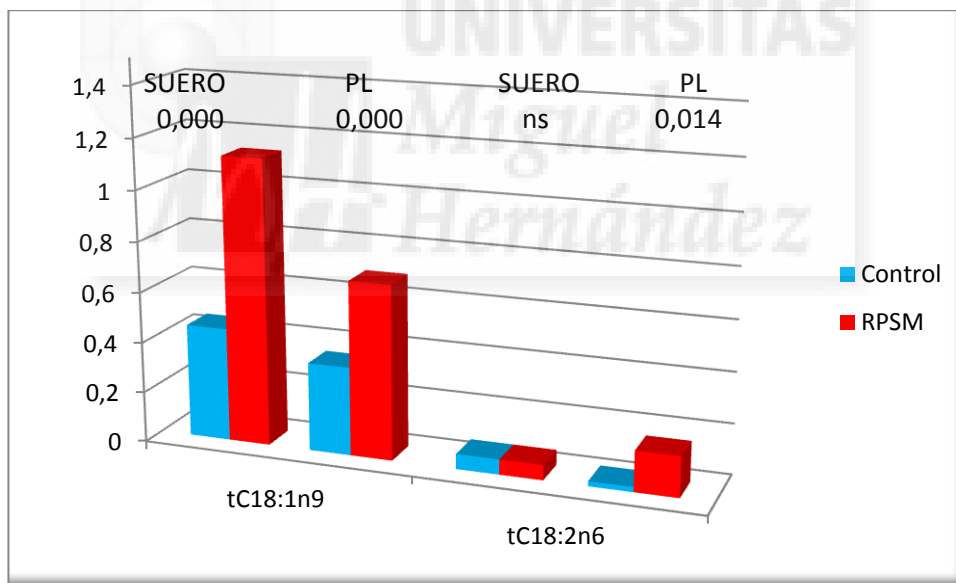


Figura 28. Comparación entre las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de los dos ácidos trans analizados entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control.

Por el contrario, en los niveles de ácidos trans se obtienen valores comparativamente mayores que los correspondientes valores en el grupo control, sobre todo en suero. En este caso, los niveles en sangre de ácidos trans en estos pacientes son debidos exclusivamente a la dieta. Los ácidos grasos trans en los alimentos son el resultado de la hidrogenación comercial de aceites vegetales y de origen marino poliinsaturados, utilizados sobre todo en comida preelaborada con grasas sometidas a altas temperaturas, comida rápida, bollería industrial, etc., con una alta cantidad de ácidos trans en su composición. Dado que estos ácidos grasos afectan a la fluidez de las membranas celulares, haciéndolas más rígidas, los niveles mayores estarían relacionados con una modificación en el desarrollo del sistema neuronal, problemas cardiovasculares, etc. (Kromhout, 1995).

Por otra parte, hay una cierta falta de conexión entre el consumo de ácidos grasos trans y la proporción de ácidos grasos trans en fosfolípidos de membrana. Ello sugiere una oxidación preferencial de ácidos grasos trans, en ausencia de otro tipo de ácidos grasos, con cantidades significativas en la dieta (Glew, 2010).

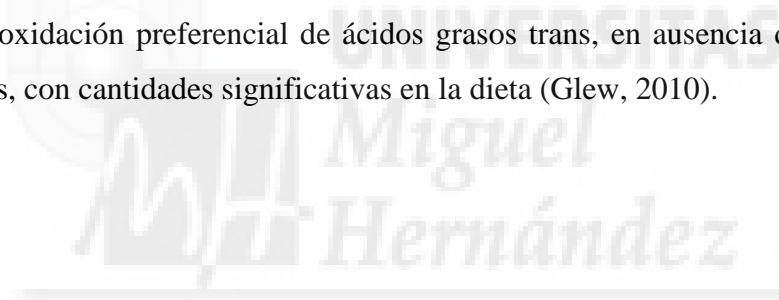


Tabla 42. Sumas de las concentraciones (% p/p) de los ácidos grasos por grupos en suero y fosfolípidos de membrana de pacientes con sospecha metabolopatía (n=374). Test U de Mann-Whitney.

AG (%p/p)	Suero			PL membranas		
	SM	control	U M-W	SM	control	U M-W
Σ sat CM	0,54 (0,84)	0,57 (0,88)	ns	0,67 (0,89)	0,35 (0,96)	0,000
Σ sat CL	41,48 (9,10)	38,61 (10,91)	0,001	52,94 (10,27)	46,33 (3,99)	0,000
Σ sat CML	1,76 (1,15)	4,04 (1,94)	0,000	6,27 (2,62)	7,74 (1,30)	0,000
Σ sat	44,15 (8,53)	43,23 (11,53)	0,025	60,06 (9,03)	54,42 (4,57)	0,000
Σ insat	54,79 (8,48)	56,27 (11,44)	0,012	39,08 (8,59)	45,20 (4,61)	0,000
Σ monoinsat	21,34 (4,96)	19,72 (6,26)	ns	15,12 (3,78)	14,96 (1,36)	ns
Σ poliinsat	33,32 (7,90)	36,94 (7,04)	0,002	23,95 (7,00)	30,43 (4,40)	0,000
Σ n-9	20,18 (5,04)	18,64 (6,23)	ns	13,97 (3,32)	14,05 (1,68)	ns
Σ n-6	30,81 (8,43)	30,31 (7,70)	ns	19,30 (5,82)	24,34 (4,30)	0,000
Σ n-3	2,20 (1,36)	6,50 (3,02)	0,000	4,65 (3,30)	5,86 (2,22)	0,000
Σ trans	1,06 (0,73)	0,50 (0,28)	0,000	0,87 (1,05)	0,37 (0,14)	0,000

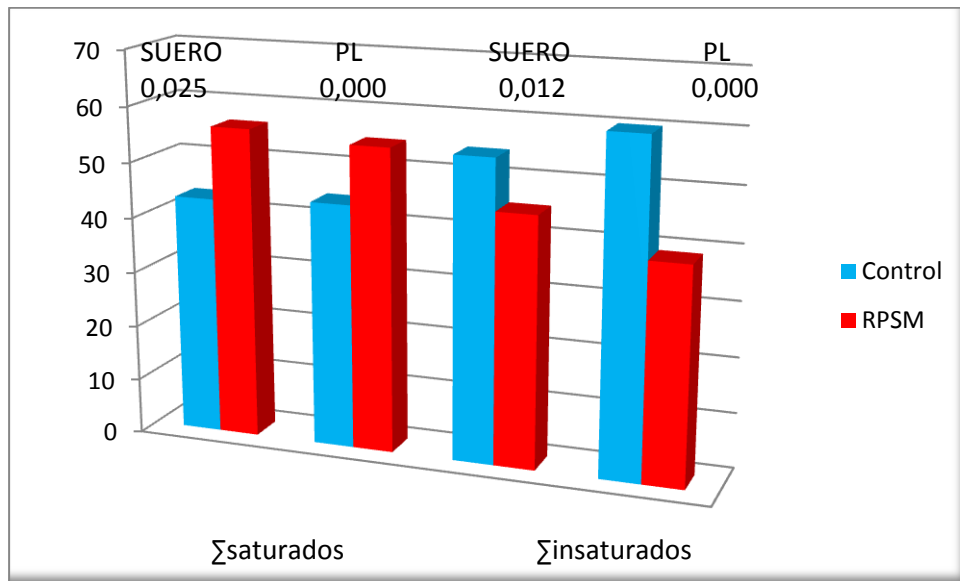


Figura 29. Comparación entre las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de las sumas de ácidos grasos saturados e insaturados analizados entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control.

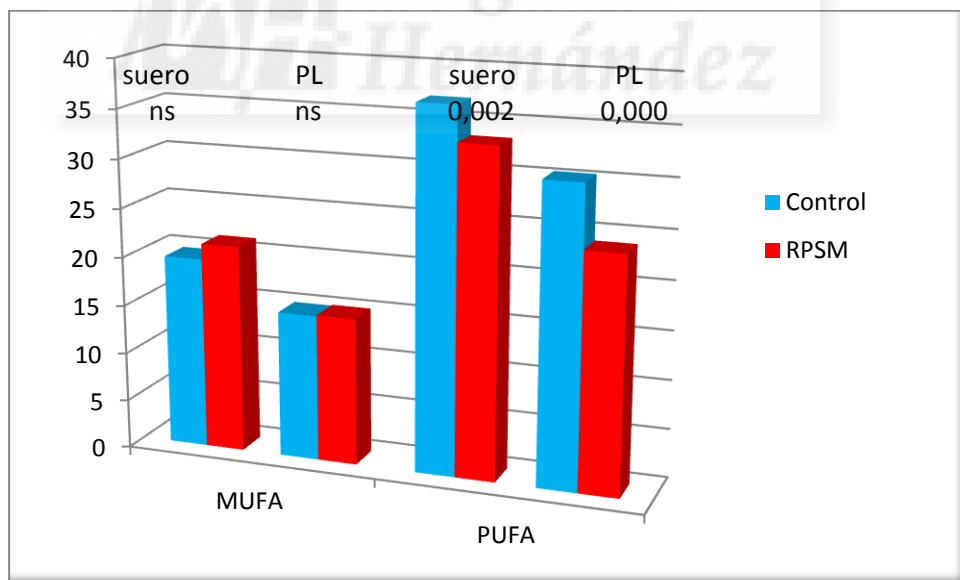


Figura 30. Comparación entre las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de las sumas de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA) analizados entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control.

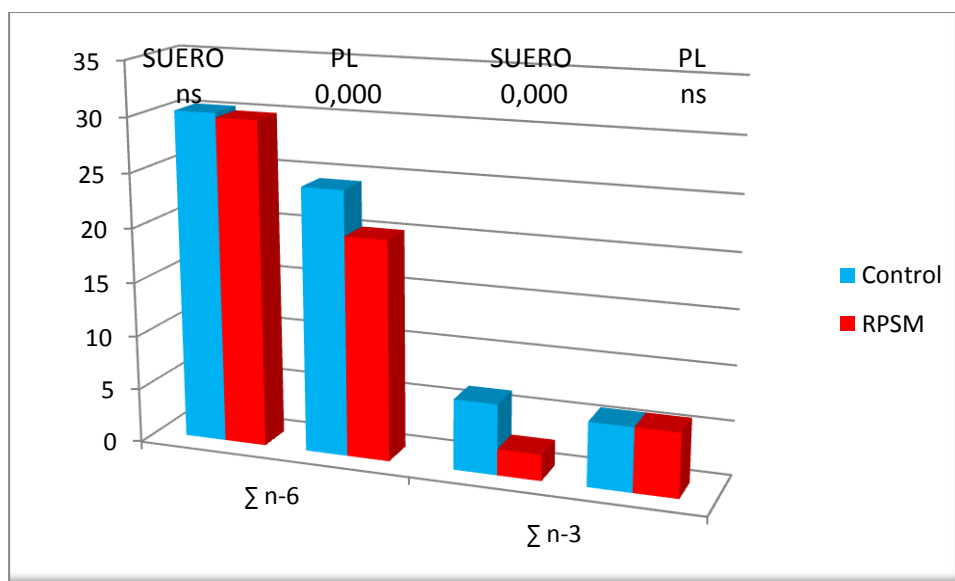


Figura 31. Comparación entre las sumas de las concentraciones en suero y fosfolípidos de membrana de los ácidos de la familia n-6 y familia n-3 entre el grupo de sospecha metabolopatía (RPSM) y el grupo control.

La dieta enriquecida con aceite rico en ácido linolénico, afecta significativamente a las diferentes fracciones de lípidos en plasma y mejora la relación de ácidos grasos n-6 a n-3 varias horas después de la ingestión, (Svensson, 2011), lo que sugiere que hay también, en el grupo sospecha, una cierta carencia de estos ácidos grasos en la dieta, independientemente de la metabolopatía.

En el caso de los niveles de ácidos grasos en fosfolípidos de membrana, los ácidos grasos n-3 tienen un efecto protector contra algunos tipos de síndrome metabólico y la resistencia a la insulina. Hay que tener en cuenta factores como la dieta, el consumo de energía y el estatus socioeconómico (Thorseng, 2009).

Por otra parte, el ácido oleico en suero se asocia directamente con la ingesta a largo plazo de aceite de oliva, el ácido linoleico con aceite de girasol, el ácido pentadecanoico con productos lácteos, ácidos grasos n-3 de cadena larga con los pescados grasos y ácidos grasos trans monoinsaturados con los alimentos manufacturados. En conclusión, niveles séricos del ácido pentadecanoico, ácido oleico,

monoinsaturado trans y los ácidos grasos poliinsaturados, son marcadores biológicos adecuados para la ingesta diaria habitual, en los meses anteriores e incluso en uno pocos años (Thiébaud, 2009).

Tabla 43. Índices entre los ácidos grasos en suero y fosfolípidos de membrana de pacientes con sospecha metabopatía (n=374). Comparación de dichos valores con los del grupo normal.

AG (%p/p)	Suero			PL membranas		
	SM	control	U M-W	SM	control	U M-W
SFA/MUFA	2,31 (1,57)	2,70 (2,06)	ns	4,35 (1,96)	3,66 (0,49)	0,005
SFA/PUFA	1,59 (1,43)	1,29 (0,78)	0,002	2,97 (2,01)	1,85 (0,53)	0,000
n6/n3	19,71 (19;10)	5,55 (2,66)	0,000	6,08 (5,58)	4,55 (1,23)	ns
C16/C18:2	5,39 (30,28)	1,63 (1,32)	0,046	6,95 (12,68)	3,48 (2,21)	0,000
C18:2/C20:4	4,85 (4,17)	4,87 (4,29)	ns	0,95 (1,43)	0,74 (0,35)	ns

La relación de SFA/MUFA/PUFA es de 1/2/1 en suero de mujeres alimentadas con una dieta sana, y estos valores pueden ser indicativos de salud (Sánchez-Muniz, 2003) y permiten un perfil de protección contra las enfermedades cardiovasculares.

En este caso es importante resaltar el índice n6/n3 y el índice C18:2n6/C20:4n6, que están representados en las figuras siguientes:

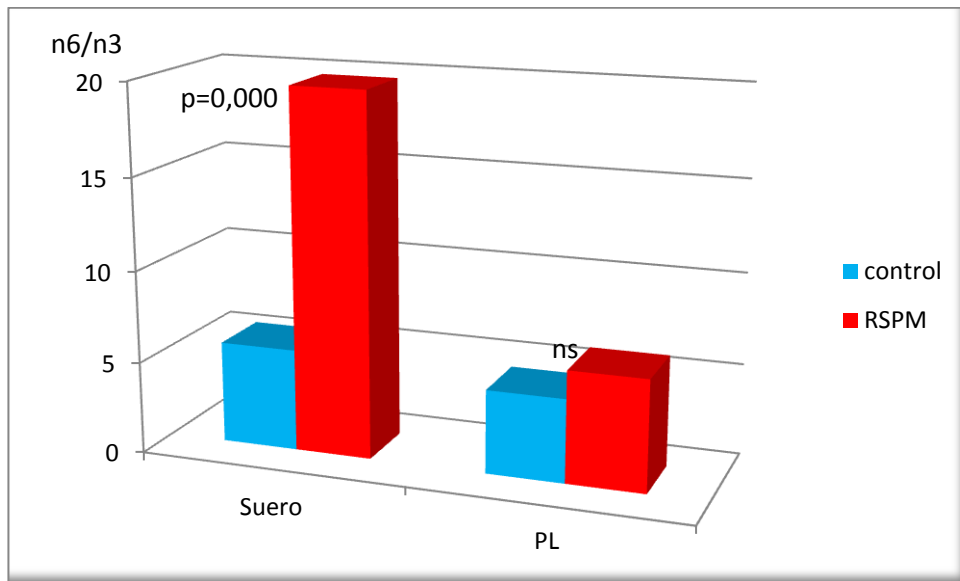


Figura 32. Comparación del índice n6/n3 en suero y fosfolípidos de membrana entre el grupo de sospecha metabopatía (RSPM) y el grupo control.

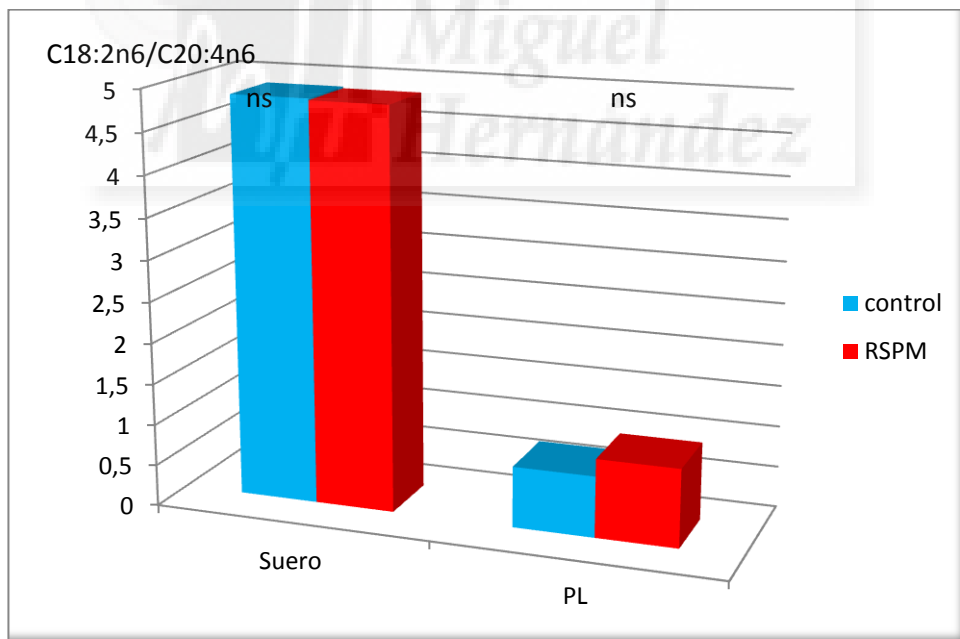


Figura 33. Comparación del índice C18:2n6/C20:4n6 en suero y fosfolípidos de membrana entre el grupo de sospecha metabopatía (RSPM) y el grupo control.

Los cambios en el perfil de estos dos ácidos grasos son propios de las enfermedades inflamatorias, como la enfermedad inflamatoria intestinal y en la colitis experimental (Fernández-Bañares, 1997). Aumentan los productos finales (C22:5n3, C22:6n3, C20:4n6, C22:5n6) y una disminución de los precursores (C18:3n3, C18:2n6).

Las sumas de todos los ácidos de la familia n-6 y familia n-3, corrobora lo dicho anteriormente para cada ácido graso de estas familias por separado. Así, la media de la suma de los n-3 es significativamente menor en suero que la del grupo control, indicando un déficit de los mismos dietético. No observándose este déficit en la suma de los n-6 en suero, pero sí en los fosfolípidos de membrana.

Respecto de la composición en ácidos grasos en fosfolípidos de membrana, los resultados obtenidos confirman cómo en el grupo problema hay repercusiones a nivel de la estructura y composición de la membrana. Resultados coincidentes con los datos reportados por Aguilar (Aguilar, 2011).

Esto se confirma mediante el estudio del índice n6/n3, que es mucho mayor en el suero de los niños con sospecha y alteraciones neurológicas que en el grupo control. También es mayor en los fosfolípidos, pero en este caso no es significativa la diferencia, sin duda por la mayor repercusión de la dieta a nivel inmediato en el suero frente a los fosfolípidos.

Una vez más, los ácidos grasos de la dieta, en el grupo sospecha, como se deduce de la distinta distribución en la concentración plasmática de ácidos grasos, parece estar vinculada a la actividad inflamatoria, así como a personas con resistencia a la insulina (Fernández-Real, 2003).

4.4. EVALUACIÓN DE LAS CORRELACIONES ENTRE LOS DISTINTOS ÁCIDOS GRASOS, EN SUERO Y FOSFOLÍPIDOS DE MEMBRANA EN LOS DOS GRUPOS ANALIZADOS.

Como se observa en las figuras 2, 3, 4 y 6, en las que se describen las rutas metabólicas, hay una amplia relación metabólica entre los diferentes ácidos grasos. En este apartado se van a estudiar las posibles correlaciones entre las concentraciones

relativas de cada ácido graso en los controles y en los niños con sospecha de alteración. Para ello se ha realizado el estudio de Pearson de cada variable con todas las demás, señalando únicamente aquellos ácidos grasos en los que se da en alguno de los grupos estudiados una correlación con $r^2 > 0,6$ y con $p < 0,01^{**}$. Los resultados se muestran en las tablas siguientes:

Tabla 44. Correlaciones entre el C6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C6 vs	Suero control	Suero sospecha	PL	
			control	sospecha
C8	0,780**	-0,039	-0,067	-0,047
C10	0,613**	0	0,197	-0,017
C12:1	0,867**	0,021	0,091	0,034
C14	0,737**	0,049	0,226	0,256**
C20:3n3	0,897**	-0,044	-0,176	0
C22:3n3	0,639**	-0,035	0,097	-0,022

Tabla 45. Correlaciones entre el C8 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C8 vs	Suero control	Suero sospecha	PL	
			control	sospecha
C10	0,739**	0,230**	0,161	0,621**
C12:1	0,947**	0,383**	0,405*	0,655**
C14	0,947**	-0,052	0,395*	0,059
tC18:1n9	-0,626**	0,106	0,127	0,414**
C20	0,16	0,171**	0,690**	0,006
C20:2n6	0,693**	0,308**	-0,131	0,538**
C20:3n3	0,793**	0,883**	0,08	0,530**
C22:2n6	0,788**	0,455**	-0,002	0,542**
C22:3n3	0,606**	0,453**	-0,085	0,274**

Tabla 46. Correlaciones entre el C10 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C10 vs	Suero		PL	
	control	sospecha	control	sospecha
C12:1	0,605**	0,241**	-0,094	0,533**
C14	0,776**	0,487**	-0,273	0,170**
tC18:2n6	0,079	0,257**	0,641**	0,327**
C18:3n3	0,622**	0,269**	-0,203	0,448**
C20:2n6	0,861**	0,232**	-0,191	0,473**
C22	-0,622**	-0,083	0,151	0,003
C22:2n6	0,813**	0,286**	0,267	0,581**
C22:3n3	0,707**	0,283**	0,095	0,163**
C22:5n3	0,687**	0,148**	-0,142	0,188**

Tabla 47. Correlaciones entre el C12 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C12 vs	Suero		PL	
	control	sospecha	control	sospecha
C14	0,633**	0,642**	0,791**	0,350**
C20:5n3	-0,068	-0,015	0,918**	0,271**

Tabla 48. Correlaciones entre el C12:1 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C12:1vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
C14	0,899**	-0,06	0,704**	0,194**
C14:1n5	0,128	0,639**	0,048	0,468**
C16:1n7	0,32	-0,146**	0,783**	0,262**
C18:1n9	-0,615**	-0,241**	-0,558**	-0,173**
C18:3n3	0,365*	0,250**	-0,108	0,607**
C20:3n3	0,929**	0,119*	-0,054	0,711**
C22:2n6	0,596**	0,556**	-0,103	0,643**

Tabla 49. Correlaciones entre el C14 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C14 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
C18:3n3	0,648**	0,001	-0,081	0,103
C20:2n6	0,730**	-0,042	-0,043	0,122*
C20:4n6	-0,615**	-,360**	-0,576**	-0,341**
C20:3n3	0,716**	-0,057	-0,216	0,079
C20:5n3	-0,235	-0,067	0,713**	0,150**
C22:2n6	0,817**	-0,119*	-0,122	0,055

Tabla 50. Correlaciones entre el C14:1n5 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C14:1n5 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
C18:3n6	0,750**	0,211**	0,107	0,166**
C20	0,816**	0,319**	0,003	0
C20:1n15	0,840**	0,556**	0,194	0,265**

Tabla 51. Correlaciones entre el C16 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C16 vs	Suero control	Suero sospecha	PL	PL
			control	sospecha
C18	0,613**	0,112*	0,712**	0,647**
C18:2n6	-0,573**	-0,633**	0,109	-0,219**
C20:4n6	-0,333	-0,440**	-0,672**	-0,477**
C22:4n6	-0,014	0,174**	-0,627**	-0,509**

No existe ninguna correlación entre el C16:1n7 y los demás ácidos grasos con las condiciones establecidas de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

Tabla 52. Correlaciones entre el C18 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C18 vs	Suero control	Suero sospecha	PL	PL
			control	sospecha
C18:1n9	-0,814**	-0,375**	-0,15	-0,273**
C18:2n6	-0,916**	-0,328**	-0,301	-0,268**
C20:4n6	0,173	-0,141**	-0,606**	-0,286**
C22:1n9	-0,615**	-0,035	-0,16	-0,367**
C22:4n6	0,606**	0,337**	-0,452**	-0,407**
C24	0,601**	0,295**	0,041	-0,120*
C24:1n9	0,650**	0,271**	0,026	-0,225**

Tabla 53. Correlaciones entre el C18:1n9 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C18:1n9 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
tC18:1n9	0,602**	0,260**	0,105	0,026
C18:2n6	0,691**	-0,037	-0,235	0,484**

Tabla 54. Correlaciones entre el tC18:1n9 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

tC18:1n9 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
C20:1n9	0,672**	0,445**	0,001	0,167**

No existen correlaciones entre el C18:2n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras con las condiciones de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

Tabla 55. Correlaciones entre el tC18:2n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

tC18:2n6 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
C20:1n15	-0,115	0,608**	0,022	0,326**
C22:2n6	-0,088	0,663**	0,415*	0,496**

Tabla 56. Correlaciones entre el C18:3n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C18:3n6 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
C20	0,896**	0,203**	-0,429*	-0,126*
C20:1n15	0,900**	0,146**	0,009	-0,276**

Tabla 57. Correlaciones entre el C18:3n3 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C18:3n3 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
C20:2n6	0,767**	0,257**	-0,119	0,587**
C20:3n3	0,024	0,153**	0,124	0,663**
C22	-0,275	-0,098	-0,672**	0,067
C22:2n6	0,938**	0,332**	0,243	0,618**
C26	0,858**	-0,053	-0,126	-0,078

Tabla 58. Correlaciones entre el 20 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C20 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
C20:1n15	0,887**	0,407**	0,323	0,017

Tabla 59. Correlaciones entre el C20:1n15 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C20:1n15 vs	Suero control	Suero sospecha	Fosfolípidos control	Fosfolípidos sospecha
C20:1n9	0,553**	0,183**	0,457**	0,664**
C20:5n3	-0,027	0,068	0,06	0,683**
C22:2n6	0,036	0,696**	-0,111	0,530**

Tabla 60. Correlaciones entre el C20:1n9 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C20:1n9 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
C20:5n3	-0,042	-0,027	0,256	0,615**

Tabla 61. Correlaciones entre el C20:2n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C20:2n6 vs	Suero control	Suero sospecha	Fosfolípidos control	Fosfolípidos sospecha
C20:5n3	0,058	0,002	0,04	0,666**
C22:2n6	0,906**	0,404**	-0,122	0,558**
C22:3n3	0,776**	0,378**	0,032	0,497**
C22:5n3	0,811**	0,125*	-0,092	0,247**
C22:6n3	-0,218	0,003	0,725**	0,083
C26	0,632**	-0,077	0,339	-0,05

No se dan correlaciones entre el C20:3n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras con las condiciones de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

Tabla 62. Correlaciones entre el C20:4n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C20:4n6 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
	C22:4n6	0,805**	0,086	0,762**
C24	0,824**	0,248**	0,371*	0,235**
C22:6n3	0,846**	0,300**	0,153	0,193**
C24:1n9	0,670**	0,308**	0,367*	0,139**

Tabla 63. Correlaciones entre el C20:3n3 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C20:3n3 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
	C22:2n6	0,318	0,234**	0,208
C22:3n3	0,643**	0,197**	0,13	0,242**

Tabla 64. Correlaciones entre el C20:5n3 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C20:5n3 vs	Suero control	Suero sospecha	PL control	PL sospecha
	C22:2n6	-0,129	0,101	-0,276

Tabla 65. Correlaciones entre el C22 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C22 vs	Suero control	Suero sospecha	Fosfolípidos control	Fosfolípidos sospecha
C22:3n3	-0,638**	-0,119*	0,138	0,085

No hay ninguna correlación, con los criterios asumidos en las tablas que se presentan, entre el C22:1n9 y los restantes ácidos grasos.

Tabla 66. Correlaciones entre el C22:2n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C22:2n6 vs	Suero control	Suero sospecha	Fosfolípidos control	Fosfolípidos sospecha
C26	0,785**	-0,037	-0,118	-0,07

Tabla 67. Correlaciones entre el C22:4n6 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C22:4n6 vs	Suero control	Suero sospecha	Fosfolípidos control	Fosfolípidos sospecha
C24	0,964**	0,588**	0,482**	0,343**
C22:6n3	0,744**	0,182**	0,041	0,205**
C24:1n9	0,834**	0,497**	0,171	0,269**

Tabla 68. Correlaciones entre el C22:3n3 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,6$ y con significación $p < 0,01$.

C22:3n3 vs	Suero control	Suero sospecha	Fosfolípidos control	Fosfolípidos sospecha
C22:5n3	0,848**	0,473**	0,038	0,259**

No hay ninguna correlación entre el C22:5n3 y los demás ácidos grasos con valores de $r^2 > 0,5$ y con significación $p < 0,01$.

Tabla 69. Correlaciones entre el C24 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,5$ y con significación $p < 0,01$.

C24 vs	Suero control	Suero sospecha	Fosfolípidos control	Fosfolípidos sospecha
C22:6n3	0,775**	0,344**	-0,359*	0,137*
C24:1n9	0,829**	0,643**	0,392*	0,484**

Tabla 70. Correlaciones entre el C22:6n3 y los demás ácidos grasos en los diferentes grupos de muestras. Se señalan únicamente aquellas correlaciones con valores de $r^2 > 0,5$ y con significación $p < 0,01$.

C22:6n3 vs	Suero control	Suero sospecha	Fosfolípidos control	Fosfolípidos sospecha
C24:1n9	0,732**	0,291**	-0,219	0,273**

Por último, tampoco hay correlaciones entre el C24:1n9 con el C26 en ninguno de los cuatro grupos.

En general se observa que en el grupo control existe toda una serie de correlaciones entre los ácidos grasos, lo cual evidencia una conexión metabólica entre los distintos ácidos grasos, pero en cuanto se estudia dicha correlación en el grupo de niños con trastornos neurológicos se pierden dichas correlaciones, mostrando bien la amplia heterogeneidad entre los niños de dicho grupo en cuanto a su patología y también la posible repercusión de la misma en el metabolismo lipídico.



También se han analizado las correlaciones entre las distintas sumas de ácidos grasos en sueros y en fosfolípidos, estando representadas en las siguientes tablas:

Tabla 71. Correlaciones entre las sumas de ácidos grasos en el grupo de sueros control. * p<0.06 y ** p<0.01.

	ΣAGCM	ΣAGCL	ΣAGCML	Σsat	Σtrans	Σinsat	Σn9	Σn6	Σn3
ΣAGCM	1								
ΣAGCL	0,694**	1							
ΣAGCML	-0,450*	-0,047	1						
Σsat	0,657**	0,990**	0,087	1					
Σtrans	-0,466**	-0,318	0,032	-0,331	1				
Σinsat	-0,651**	-0,990**	-0,088	-1,000**	0,31	1			
Σn9	-0,498**	-0,845**	-0,15	-0,862**	0,3	0,861**	1		
Σn6	-0,678**	-0,897**	0,112	-0,880**	0,251	0,881**	0,604**	1	
Σn3	0,179	0,218	-0,221	0,182	-0,097	-0,181	-0,314	-0,388*	1

Tabla 72. Correlaciones entre las sumas de ácidos grasos en el grupo de sueros problema. * p<0.06 y ** p<0.01.

	ΣAGCM	ΣAGCL	ΣAGCML	Σsat	Σtrans	Σinsat	Σn9	Σn6	Σn3
ΣAGCM	1								
ΣAGCL	0,177**	1							
ΣAGCML	-0,047	0,065	1						
Σsat	0,254**	0,986**	0,114*	1					
Σtrans	0,138*	-0,151**	-0,104	-0,119*	1				
Σinsat	-0,268**	-0,982**	-0,106*	-0,996**	0,034	1			
Σn9	0,267**	-0,435**	-0,091	-0,323**	0,262**	0,302**	1		
Σn6	-0,471**	-0,748**	-0,078	-0,681**	-0,130*	0,697**	-0,147**	1	
Σn3	0,096	-0,044	0,221**	0,023	0,294**	-0,048	-0,101	-0,067	1

Tabla 73. Correlaciones entre las sumas de ácidos grasos en el grupo de fosfolípidos de membrana control. * p<0.06 y ** p<0.01.

	ΣAGCM	ΣAGCL	ΣAGCML	Σsat	Σtrans	Σinsat	Σn9	Σn6	Σn3
ΣAGCM	1								
ΣAGCL	0,507**	1							
ΣAGCML	-0,393*	-0,086	1						
Σsat	0,544**	0,964**	0,126	1					
Σtrans	-0,061	0,242	0,104	0,231	1				
Σinsat	-0,537**	-0,964**	-0,129	-0,999**	-0,262	1			
Σn9	-0,420*	-0,238	0,466**	-0,165	0,263	0,155	1		
Σn6	-0,685**	-0,741**	0,054	-0,782**	-0,15	0,780**	0,222	1	
Σn3	0,206	-0,405*	-0,401*	-0,428*	-0,256	0,433*	-0,387*	-0,153	1

Tabla 74. Correlaciones entre las sumas de ácidos grasos en el grupo de fosfolípidos de membrana problema. * p<0.06 y ** p<0.01.

	ΣAGCM	ΣAGCL	ΣAGCML	Σsat	Σtrans	Σinsat	Σn9	Σn6	Σn3
ΣAGCM	1								
ΣAGCL	-0,249**	1							
ΣAGCML	-0,113*	-0,307**	1						
Σsat	-0,232**	0,965**	-0,118*	1					
Σtrans	0,420**	-0,464**	0,013	-0,463**	1				
Σinsat	0,192**	-0,957**	0,123*	-0,994**	0,364**	1			
Σn9	0,009	-0,487**	0,025	-0,527**	0,099	0,536**	1		
Σn6	-0,092	-0,712**	0,122*	-0,754**	0,101	0,780**	0,182**	1	
Σn3	0,359**	-0,572**	0,094	-0,564**	0,438**	0,539**	-0,007	0,112*	1

Tabla 75. Correlaciones entre las proporciones de cada ácido graso en suero frente a las de los ácidos grasos en fosfolípidos de membrana. en el grupo control. * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$.

PL vs Suero	C6	C8	C12	C12:1	C14	C14:1n5	C18:1n9	
C12	-0,045	-0,02	0,829**	-0,034	0,124	-0,011	0,026	-0,064
C14	-0,062	-0,016	0,637**	-0,043	0,108	-0,003	0,046	-0,026
C18:3n3	0,872**	0,722**	0,301	0,857**	0,648**	0,172	-0,604**	0,398*
C20:1n15	0,115	0,282	0,178	0,088	0,338	0,272	-0,162	0,671**
C20:1n9	-0,09	0,018	0,164	-0,11	0,142	0,615**	-0,145	0,538**
C20:5n3	-0,275	-0,202	0,680**	-0,248	-0,042	-0,017	0,11	-0,105
C22	-0,681**	-0,504**	-0,379*	-0,631**	-0,488**	-0,15	0,232	-0,128

No hay ninguna correlación entre las sumas en suero y fosfolípidos de membrana con las condiciones establecidas.

En el caso del grupo problema, únicamente se da una correlación con las condiciones establecidas, entre el C16 de suero y el C16 de los fosfolípidos de membrana con un valor de 0,521**

De nuevo se confirma dicha pérdida de correlaciones en el grupo de niños con trastornos neurológicos. Todos estos datos apuntan a una conexión entre el trastorno neurológico, la dieta ingerida y los niveles de ácidos grasos, que puede ser bidireccional.

Se necesitan muchos más estudios para dilucidar estos puntos y la homogenización por enfermedades neurológicas de los pacientes.



5. CONCLUSIONES.

1. Se aportan valores de normalidad de los ácidos grasos entre C6-C26, saturados e insaturados, en edad pediátrica, de las concentraciones en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.

2. Las concentraciones de los ácidos grasos en suero y fosfolípidos de membranas celulares son distintas.

3. Los valores de los ácidos grasos en suero y membranas celulares correlacionan débilmente, aunque significativamente, respondiendo posiblemente sus concentraciones a distintos factores, siendo la dieta un importante factor modificador en suero de los mismos en situaciones de normalidad.

4. La evaluación de los ácidos grasos en estados patológicos debe hacerse con una medida cuantitativa combinada de los ácidos grasos en suero y en fosfolípidos de membranas celulares.

5. Los niños con trastornos neurológicos tienen niveles inferiores de ácidos grasos n-3 en suero y en fosfolípidos.

6. El grupo de pacientes neurológicos presenta niveles superiores de ácidos grasos trans que los del grupo control.

7. El índice $n6/n3$ es mucho mayor en el grupo de niños con trastornos neurológicos.

8. Dichas alteraciones muestran una dieta inadecuada en estos niños.

9. Existe un amplio abanico de correlaciones entre los ácidos grasos en el grupo control, lo que muestra la conexión metabólica entre ellos.

10. Estas correlaciones se pierden en su práctica totalidad en el grupo de niños con trastornos neurológicos.

6. BIBLIOGRAFÍA

79 Congreso de la Sociedad Española de Oftalmología (2003), la Asociación de Afectados de Retinosis Pigmentaria de Euskadi presentó el Symposium: Antioxidantes y Ácidos Grasos (DHA) en Retinosis Pigmentaria: Diagnóstico y Tratamiento Precoz.

Aguilar Cordero MJ, González Jiménez E, Sánchez Perona J, et al. The Guadix study of the effects of a Mediterranean-diet breakfast on the postprandial lipid parameters of overweight and obese pre-adolescents. *Nutr Hosp.* 2010 Nov-Dec;25(6):1025-33.

Aguilar Cordero MJ, González Jiménez E, J. Sánchez Perona J, et al. Obesidad y su relación con marcadores de inflamación y ácidos grasos de eritrocito en un grupo de adolescentes obesos. *Nutr Hosp.* 2011;27:161-164.

Aro A, Kardinaal AF, Salminen I et al. Adipose tissue isomeric trans fatty acids and risk of myocardial infarction in nine countries: the EURAMIC study. *Lancet*. 1995 Feb 4;345(8945):273-8.

Arvindakshan M, Sitasawad S, Debsikdar V et al. Essential polyunsaturated fatty acid and lipid peroxide levels in never-medicated and medicated schizophrenia patients. *Biol Psychiatry* 2003; Jan 1;53(1):56-64.

Bassett CM, McCullough RS, Edel AL, et al. Trans-fatty acids in the diet stimulate atherosclerosis. *Metabolism*. 2009 Dec;58(12):1802-8.

Belury MA, Kempa-Steczko A. Conjugated linoleic acid modulates hepatic lipid composition in mice. *Lipids* 1997; Feb;32(2):199-204.

Boatella J, Rafecas M, Codony R. Isomeric trans fatty acids in the Spanish diet and their relationships with changes in fat intake patterns. *Eur J Clin Nutr* 1993; Sep;47 Sup 1:S62-5.

Bolton-Smith C, Woodward M, Fenton S et al. Trans fatty acids in the Scottish diet. An assessment using a semi-quantitative food frequency questionnaire. *BR J Nutr*. 1995 Nov; 74(5): 661-70.

Brenna JT, Salem N Jr, Sinclair AJ, et al. Alpha-Linolenic acid supplementation and conversion to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in humans. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2009 Feb-Mar;80(2-3):85-91. Epub 2009 Mar 9.

Brett G, Jeffrey C, Harrison S et al. The Role of Docosahexaenoic Acid in Retinal Function. *Lipids* 2001;36,(9).

Burrows T, Berthon B, Garg ML et al. A comparative validation of a child food frequency questionnaire using red blood cell membrane fatty acids. *Eur J Clin Nutr*. 2012 Feb 29. doi: 10.1038/ejcn.2012.26.

Calder PhC. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. *Lipids* 2001;36(9):1007.

Carrillo L, Dalmau J, Martínez JR et al. Grasas de la dieta y salud cardiovascular. Clin Invest Arterioscl 2011;23(supl 1):1-36.

Castro-Martínez MG, Bolado-García VE, Landa-Anell MV et al. Ácidos grasos trans de la dieta y sus implicaciones metabólicas. Gac Med Mex. 2010 Jul-Aug;146(4):281-8.

Cevc, G. How membrane chain-melting phase-transition temprane is affected by the lipid chain asymetry and degree of saturat in effective chain-length model. Biochem 1991; Jul 23;30(29):7186-93.

Chalon S, Vancassel S, Zimmer L et al. Polyunsaturated fatty acids and cerebral function: focus on monoaminergic neurotransmission. Lipids 2001; Sep;36(9):937-44.

Chardigny JM, Wolff RL, Mager E et al. Trans mono and polyunsaturated fatty acids in human milk. Eur J Clin Nutr. 1995 Jul;49(7):523-31.

Chen ZY, Pelletier G, Hollywood R et al. Trans fatty acid isomers in Canadian human milk. Lipids 1995; Jan;30(1):15-21.

Chen ZY, Ratnayake WM, Fortier L et al. Similar distribution of trans fatty acid isomers in partially hydrogenated vegetable oils and adipose tissue of Canadians. Can J Physiol Pharmacol. 1995 Jun;73(6):718-23.

Chin SF, Storkson JM, Albright KJ, et al. Conjugated linoleic acid is a growth factor for rats as shown by enhanced weight gain and improved feed efficiency. J Nutr 1994; Dec;124(12):2344-9.

Chiu CC, Frangou S, Chang CJ, et al. Associations between n-3 PUFA concentrations and cognitive function after recovery from late-life depression. Am J Clin Nutr. 2012 Feb;95(2):420-7.

Chung MK. Omega-3 fatty acid supplementation for the prevention of arrhythmias. Curr Treat Op Cardio Med 2008;10(5):398-407.

Colombo J: Recent advances in infant cognition: Implications for long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation studies. *Lipids* 2001;36(9):919-26.

Crawford MA, 1990. The early development and evolution of the human brain. *Ups J Med Sci Suppl* 1990; 48:43-78.

Crawford MA, Bloom M, Broadhurst CL et al. Evidence for the unique function of docosahexaenoic acid during the evolution of the modern hominid brain. *Lipids* 1999; 34 Sup:S39-47.

de Goede J, Geleijnse JM, Boer JM et al. Linoleic acid intake, plasma cholesterol and 10-year incidence of CHD in 20 000 middle-aged men and women in the Netherlands. *Br J Nutr* 2011; Aug 5:1-7.

Decsi T, Molnár D, Koletzko B. Long-chain polyunsaturated fatty acids in plasma lipids of obese children. *Lipids*. 1996 Mar;31(3):305-11.

Decsi T, Campoy C, Demmelmair H et al. Inverse association between trans isomeric and long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnant women and their newborns: data from three European countries. *Ann Nutr Metab*. 2011;59(2-4):107-16.

Djemli-Shipkolye A, Raccach D, Pieroni G et al. Differential effect of omega3 PUFA supplementations on Na,K-ATPase and Mg-ATPase activities: possible role of the membrane omega6/omega3 ratio. *J Membr Biol* 2003;191(1):37-47.

Duchén K, Björkstén B. Polyunsaturated n-3 fatty acids and the development of atopic disease. *Lipids* 2001;36,(9):1033.

Emken, E.A., Do trans acids have adverse health consequences?, *Health Effects Of Dietary Fatty Acids*, G.J. Nelson, ed, AOCS Press, Champaign, IL 1993:245-63.

Enig MG, Atal S, Keeney M et al. Isomeric trans fatty acids in the U.S. diet. *J Am Coll Nutr* 1990 Oct;9(5):471-86 .

Farooqui T and Farooqui AA. Lipid-Mediated Oxidative Stress and Inflammation in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Parkinson's Disease* 2011, ID 247467.

Fernández-Bañares F, Esteve-Comas M, Mañé J, et al. Changes in mucosal fatty acid profile in inflammatory bowel disease and in experimental colitis: a common response to bowel inflammation. *Clin Nutr.* 1997 Aug;16(4):177-83.

Fernández-Real JM, Broch M, Vendrell J, et al. Insulin resistance, inflammation, and serum fatty acid composition. *Diabetes Care.* 2003 May;26(5):1362-8.

Fernstrom JD. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on neuronal function. *Lipids* 1999; Feb;34(2):161-9.

Ferrari D, Cysneiros RM, Scorza CA et al. Neuroprotective activity of omega-3 fatty acids against epilepsy-induced hippocampal damage: Quantification with immunohistochemical for calcium-binding proteins. *Epilepsy Behav.* 2008 Jul;13(1):36-42. Epub 2008 Mar 4.

Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. *J Biol Chem.* A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. 1957 May;226(1):497-509.

Fritsche J, Steinhart, H. Analysis, occurrence, and physiological properties of trans fatty acids (TFA) with particular emphasis on conjugated linoleic acid (CLA)- a review. 1998 *Fett/Lipid* 100, 190-210.

Garelli A, Rotstein NP, Politi LE. Docosahexaenoic acid promotes photoreceptor differentiation without altering Crx expression. *Invest Ophthal Vis Sci* 2006; Jul;47(7):3017-27.

Gattaz WF, Brunner J. Phospholipase A2 and the hypofrontality hypothesis of schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1996; Aug;55(1-2):109-13.

Giordano P, Del Vecchio GC, Cecinati V, et al. Metabolic, inflammatory, endothelial and haemostatic markers in a group of Italian obese children and adolescents. *Eur J Pediatr*. 2011 Jul;170(7):845-50. Epub 2011 Jan 6.

Glew RH, Chuang LT, Berry T, et al. Lipid profiles and trans fatty acids in serum phospholipids of semi-nomadic Fulani in northern Nigeria. *J Health Popul Nutr*. 2010 Apr;28(2):159-66.

Gomes H, Ramirez MA, Magdalon J, et al. Dietary Free Oleic and Linoleic Acid Enhances Neutrophil Function and Modulates the Inflammatory Response in Rats. *Lipids* 2010; 45(9):809-19.

Górska A, Nawrocki A, Urban M, Florys B. Composition of phospholipid fatty acids in erythrocyte membranes of children with chronic juvenile arthritis: clinical and biochemical correlations. *Med Sci Monit*. 2000 Jan-Feb;6(1):30-9.

Ha YL, Storkson J, Pariza MW. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res* 1990; Feb 15;50(4):1097-101.

Hashimoto M, Hossain MdS, Yamasaki H, et al. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on plasma membrane fluidity of aortic endothelial cells. *Lipids* 1999;34(12):1297-1304.

Hashimoto M, Shahdat HMd and Katakura M. Docosahexaenoic Acid and Cognitive Dysfunction, 2011. En: *Handbook of Behavior, Food and Nutrition*, Part 20, pp. 1797-1813.

Hekmatdoost A, Mirmiran P, Hosseini-Esfahani F, et al. Dietary fatty acid composition and metabolic syndrome in Tehranian adults. *Nutrition*. 2011 Oct;27(10):1002-7.

Hibbeln JR, Makino KK, Martin CE, et al. Smoking, gender, and dietary influences on erythrocyte essential fatty acid composition among patients with schizophrenia or schizoaffective disorder. *Biol Psychiatry*. 2003 Mar 1;53(5):431-41.

Hodgson JM, Wahlqvist ML, Boxall JA et al. Can linoleic acid contribute to coronary artery disease? *Am J Clin Nutr* 1993; Aug;58(2):228-34.

Hon GM, Hassan MS, van Rensburg SJ, et al. Red blood cell membrane fluidity in the etiology of multiple sclerosis. *J Membr Biol.* 2009 Dec;232(1-3):25-34. Epub 2009 Nov 14.

Horrobin DF. Omega-3 Fatty Acid for Schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2003; Jan;160(1):188-9.

Horrobin DF. The membrane phospholipid hypothesis as a biochemical basis for the neurodevelopmental concept of schizophrenia. *Schizophr Res* 1998; Apr 10;30(3):193-208.

Høstmark AT, Lunde MS. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2012 Feb;37(1):31-9. Epub 2011 Dec 12. Cheese can reduce indexes that estimate fatty acid desaturation. Results from the Oslo Health Study and from experiments with human hepatoma cells.

HOY CH (1991) Conference: Trans fatty acids-Analysis and metabolism. *Lipidforum*, Helsinki, Finland, Oct 21-22.

Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE et al. Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1997; Nov 20;337(21):1491-9.

Hudson CJ, Kennedy JL, Gotowiec A et al. Genetic variant near cytosolic phospholipase A2 associated with schizophrenia. *Schizophr Res* 1996; Aug 23;21(2):111-6.

Hunter JE and Applewhite TH. Reassessment of trans fatty acid availability in the U.S. *Diet. AM J Clin Nutr* 1991;54:363-369 .

Innis SM. Dietary (n-3) fatty acids and brain development. *J Nutr* 2007; Apr;137(4):855-9.

Ip C, Marshall JR. Trans fatty acids and cancer. *Nutr Rev* 1996; May;54(5):138-45.

Jackson LA. Omega-3 fatty acids and prevention of arrhythmias. *Curr Opin Lipidol* 2007 Feb; 18(1):31-4.

Jakobik V, Burus I, Decsi T. Fatty acid composition of erythrocyte membrane lipids in healthy subjects from birth to young adulthood. *Eur J Pediatr.* 2009 Feb;168(2):141-7.

Jeffrey BG, Mitchell DC, Hibbeln JR et al. Visual acuity and retinal function in infant monkeys fed long-chain PUFA. *Lipids*, 2002;37(9):839-48.

Judd JT, Clevidence BA, Muesing RA et al. Dietary trans fatty acids: effects on plasma lipids and lipoproteins of healthy men and women. *Am J Clin Nutr.* 1994 Apr;59(4):861-8.

Jutila A, Sderlund TS, Pakkanen AL et al. Comparison of the effects of clozapine, chlorpromazine, and haloperidol on membrane lateral heterogeneity. *Chem Phys Lipids* 2001; Aug;112(2):151-63.

Kanazawa A, Shirota Y and Fujimoto K. Increased hepatic β -oxidation of docosahexaenoic acid, elongation of eicosapentaenoic acid, and acylation of lysophosphatidate in rats fed a docosahexaenoic acid-enriched diet. *Lipids* 1997;32(7):737.

Kang JX, Leaf A. Antiarrhythmic effects of polyunsaturated fatty acids. Recent studies. *Circulation* 1996; Oct 1;94(7):1774-80.

Katan MB; Zock PL; Mensink RP. Trans fatty acids and their effects on lipoproteins in humans. *Ann Rev Nutr* 1995; 15:473-93.

Kim J, Bhattacharjee R, Kheirandish-Gozal L, et al. Insulin sensitivity, serum lipids, and systemic inflammatory markers in school-aged obese and nonobese children. *Int J Pediatr.* 2010;2010:846098. Epub 2011 Jan 12.

Kohlmeier L, Simonsen N, van 't Veer P et al. Adipose tissue trans fatty acids and breast cancer in the European Community Multicenter Study on Antioxidants,

Myocardial Infarction, and Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 1997 Sep;6(9):705-10.

Koletzko B, Lien E, Agostoni C et al. The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendations. *J Perinat Med* 2008;36(1):5-14.

Kromhout D, Menotti A, Bloemberg B et al. Dietary saturated and trans fatty acids and cholesterol and 25-year mortality from coronary heart disease: the Seven Countries Study. *Prev Med* 1995; May;24(3):308-15.

Kroustallaki P, Tsimpinos G, Vardavas CI et al. Fatty acid composition of Greek margarines and their change in fatty acid content over the past decades. *Int J Food Sci Nutr* 2011; May 16.

Kummerow FA, Zhou Q, Mahfouz MM. Effect of trans fatty acids on calcium influx into human arterial endothelial cells. *Am J Clin Nutr* 1999; Nov;70(5):832-8.

Lapillonne A and E. Carlson SE. Polyunsaturated fatty acids and infant growth. *Lipids* 2001;36(9):901.

Levant B, Ozias MK, Jones KA et al. Differential effects of modulation of docosahexaenoic acid content during development in specific regions of rat brain. *Lipids* 2006;41(5):407-14.

Maes M, Christophe A, Delanghe J et al. Lowered w3 polyunsaturated in serum phospholipids and cholesteryl esters of depressed patients. *Psychiatry Res* 1999; Mar 22;85(3):275-91.

Mamalakis G, Kiriakakis M, Tsibinos G, et al. Depression and adipose polyunsaturated fatty acids in an adolescent group. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2004 Nov;71(5):289-94.

Martínez A. Recomendaciones dietéticas y salud. En: *Alimentación y salud pública*. Martínez J, Artiasarán I, Madrigal H, eds. 2 nd ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid 2001:97-101.

Martinez M, Ballabriga A, Gil-Gibernau JJ. Lipids of the developing human retina: I. Total fatty acids, plasmalogens, and fatty acid composition of ethanolamine and choline phosphoglycerides. *J Neurosci Res* 1988; Aug;20(4):484-90.

Martínez M, Ballabriga A. A chemical study on the development of the human forebrain and cerebellum during the brain 'growth spurt' period. I. Gangliosides and plasmalogens. *Brain Res* 1978; Dec 29;159(2):351-62.

Martínez M, Ballabriga A. Effects of parenteral nutrition with high doses of linoleate on the developing human liver and brain. *Lipids* 1987; Mar;22(3):133-8.

Martinez M, Conde C, Ballabriga A. Some chemical aspects of human brain development. II. Phosphoglyceride fatty acids. *Pediatr Res* 1974; Feb;8(2):93-102.

Martínez M, Mougán I. Fatty acid composition of human brain phospholipids during normal development. *J Neurochem* 1998; Dec;71(6):2528-33.

Martínez M, Noguer MT. Las enfermedades peroxisomales generalizadas: Nuevo enfoque terapéutico. En: *Diagnóstico y Tratamiento de las Enfermedades Metabólicas Hereditarias*. Sanjurjo P y Baldellou A, eds. Editorial Ergon, 2010.

Martinez M. Biochemical changes during early myelination of the human brain. In: *Developmental Neurobiology*, editado por P. Evrard y A. Minkovski, Raven Press, New York 1989;. 185-200.

Martinez M. Restoring the DHA levels in the brains of Zellweger patients. *J Mol Neurosci* 2001; Apr-Jun;16(2-3):309-16.

Martinez, M. Myelin in the developing human cerebrum. *Brain Res* 1986; Feb 5;364(2):220-32.

Martinez, M. Myelin lipids in the developing cerebrum, cerebellum, and brain stem of normal and undernourished children. *J Neurochem* 1982; Dec;39(6):1684-92.

Martinez, M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J Pediatr* 1992; Apr;120(4 Pt 2):S129-38.

MERCASA Alimentación en España 2009. Disponible en: http://www.munimerca.es/mercasa/alimentacion_2009/pdfs/02_05_consumo.pdp.

Revisado y fecha.

Moya M, Cortés E, Juste M et al. Fatty acid absorption in preterms on formulas with and without long-chain polyunsaturated fatty acids and in terms on formulas without these added. *Eur J Clin Nutr* 2001; Sep;55(9):755-62.

Muskiet FA, Van Doormaal JJ, Martín IA et al. Capillary gas chromatographic profiling of total long-chain fatty acids and cholesterol in biological materials. *J Chromatogr* 1983; Dec 9;278(2):231-44.

Nabekura J, Noguchi K, Witt MR et al. Functional modulation of human recombinant gamma-aminobutyric acid type A receptor by docosahexaenoic acid. *J Biol Chem* 1998; May 1;273(18):11056-61.

Obayashi S, Matsushima E, Ando H et al. Exploratory eye movements during the Benton Visual Retention Test: characteristics of visual behavior in schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* 2003; Aug;57(4):409-15.

Palou A, Picó C, Bonet ML, Serra F, Oliver P, Rodríguez AM y Ribot J. Lípidos dietéticos y salud. En: *El libro Blanco de las Grasas en la Alimentación Funcional*. Unilever, España 2008b:41-61.

Palou A, Picó C, Bonet ML, Serra F, Oliver P, Rodríguez AM y Ribot J. Metabolismo de las grasas. En: *El libro Blanco de las Grasas en la Alimentación Funcional*. Unilever, España 2008a:21-38.

Peet M, Brind J, Ramchand CN et al. Two double-blind placebo-controlled pilot studies of eicosapentaenoic acid in the treatment of schizophrenia. *Schizophr Res* 2001; Apr 30;49(3):243-51.

Peet M, Horrobin, DF. A dose-ranging exploratory study of the effects of ethyl-eicosapentaenoate in patients with persistent schizophrenic symptoms. *J Psychiatr Res* 2002; Jan-Feb;36(1):7-18.

Peet M, Shah S, Selvam K, et al. Polyunsaturated fatty acid levels in red cell membranes of unmedicated schizophrenic patients. *World J Biol Psychiatry*. 2004 Apr;5(2):92-9.

Politi L, Rotstein N and Carri N. Effects of docosahexaenoic acid on retinal development: Cellular and molecular aspects. *Lipids* 2001;36,(9):927-35.

Poudyal H, Panchal SK, Diwan V, et al. Omega-3 fatty acids and metabolic syndrome: effects and emerging mechanisms of action. *Prog Lipid Res*. 2011 Oct;50(4):372-87. Epub 2011 Jul 3.

Price PT, Nelson CM, Clarke SD. Omega-3 polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Curr Opin Lipidol* 2000; Feb;11(1):3-7.

Ranjekar PK, Hinge A, Hegde MV et al. Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. *Psychiatry Res* 2003; Dec 1;121(2):109-22.

Ratnayake WM, Chardigny JM, Wolff RL et al. Essential fatty acids and their trans geometrical isomers in powdered and liquid infant formulas sold in Canada. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; Oct;25(4):400-7.

Rodríguez-Cruz M, Tovar AR, del Prado M, et al. Molecular mechanisms of action and health benefits of polyunsaturated fatty acids. *Rev Invest Clin*. 2005 May-Jun;57(3):457-72.

Ross BM, Turenne S, Moszczynska A et al. Differential alteration of phospholipase A2 activities in brain of patients with schizophrenia. *Brain Res* 1999; Mar 13;821(2):407-13.

Rotstein NP, Politi LE, German OL et al. Protective effect of docosahexaenoic acid on oxidative stress-induced apoptosis of retina photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; May;44(5):2252-9.

Salem N Jr, Litman B, Kim HY et al. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids* 2001; Sep;36(9):945-59.

Salo P, Seppänen-Laakso T, Laakso I et al. Low-saturated fat, low-cholesterol diet in 3-year-old children: effect on intake and composition of trans fatty acids and other fatty acids in serum phospholipid fraction-The STRIP study. Special Turku coronary Risk factor Intervention Project for children. *J Pediatr* 2000; Jan;136(1):46-52.

Sanchez-Muniz FJ, Bastida S, Viejo JM, et al. Small supplements of N-3 fatty acids change serum low density lipoprotein composition by decreasing phospholipid and apolipoprotein B concentrations in young adult women. *Eur J Nutr*. 1999 Feb;38(1):20-7.

Sánchez-Muniz FJ, Carbajal A, Ródenas S, et al. Nutritional assessment, health markers and lipoprotein profile in postmenopausal women belonging to a closed community. *Eur J Clin Nutr*. 2003 Sep;57 Suppl 1:S26-30.

Siguel EN, Lerman RH. Prevalence of essential fatty acid deficiency in patients with chronic gastrointestinal disorders. *Metabolism*. 1996 Jan;45(1):12-23.

Siguel EN, Lerman RH. Trans-fatty acid patterns in patients with angiographically documented coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1993; Apr 15;71(11):916-20.

Svensson J, Rosenquist A, Ohlsson L. Postprandial lipid responses to an alpha-linolenic acid-rich oil, olive oil and butter in women: a randomized crossover trial. *Lipids Health Dis*. 2011 Jun 28;10:106.

Steinhart H, Pfalzgraf A. Intake of trans isomeric fatty acids an evaluation on the basis of data of the national consumption study in 1991. *Z Ernährungswiss*. 1992 Sep;31(3):196-204.

Stoll AL, Damico KE, Daly BP, Severus WE, Marangell LB. Methodological considerations in clinical studies of omega 3 fatty acids in major depression and bipolar disorder. *World Rev Nutr Diet* 2001;88:58-67.

Subbaiah PV, Subramanian VS, Liu M. Trans unsaturated fatty acids inhibit lecithin: cholesterol acyltransferase and alter its positional specificity. *J Lipid Res* 1998; Jul;39(7):1438-47.

Sundström B, Johansson G, Kokkonen H, et al. Plasma phospholipid fatty acid content is related to disease activity in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*. 2012 Feb;39(2):327-33.

Thanuthong T, Francis DS, Senadheera SP, et al. LC-PUFA biosynthesis in rainbow trout is substrate limited: use of the whole body fatty acid balance method and different 18:3n-3/18:2n-6 ratios. *Lipids*. 2011 Dec;46(12):1111-27. doi: 10.1007/s11745-011-3607-4. Epub 2011 Sep 4.

Tavares H, Yacubian J, Talib LL et al. Increased phospholipase A2 activity in schizophrenia with absent response to niacin. *Schizophr Res* 2003; May 1;61(1):1-6.

Thiébaud AC, Rotival M, Gauthier E, et al. Correlation between serum phospholipid fatty acids and dietary intakes assessed a few years earlier. *Nutr Cancer*. 2009;61(4):500-9.

Thies F, Nebe-von-Caron G, Powell JR et al. Dietary supplementation with gamma-linolenic acid or fish oil decreases T lymphocyte proliferation in healthy older humans. *J Nutr* 2001; Jul;131(7):1918-27.

Thomas LH, Winter JA, Scott RG. Concentration of 18:1 and 16:1 transunsaturated fatty acids in the adipose body tissue of decedents dying of ischaemic heart disease compared with controls: analysis by gas liquid chromatography. *J Epidemiol Community Health*. 1983 Mar;37(1):16-21.

Thorseng T, Witte DR, Vistisen D, et al. The association between n-3 fatty acids in erythrocyte membranes and insulin resistance: the Inuit Health in Transition Study. *Int J Circumpolar Health*. 2009 Sep;68(4):327-36.

Uusitalo L, Nevalainen J, Salminen I, et al. Fatty acids in serum and diet - a canonical correlation analysis among toddlers. *Matern Child Nutr.* 2011 Nov 8. doi: 10.1111/j.1740-8709.2011.00374.x.

Van Der Steege G, Muskiet FA, Martín IA et al. Simultaneous quantification of total médium- and long-chain fatty acids in human milk by capillary gas chromatography with split inyection. *J Chromatogr* 1987; Mar 20;415(1):1-11.

Verduci E, Radaelli G, Salvioni M, et al. Plasma long-chain fatty acids profile and metabolic outcomes in normolipidaemic obese children after one-year nutritional intervention. *Acta Paediatr.* 2011 Apr;100(4):585-9. doi: 10.1111/j.1651-2227.2010.02120.x.

Verkade HJ, Hoving EB, Muskiet FA et al. Fat absorption in neonates: comparison of long-chain fatty acid and triglyceride compositions of formula, feces and blood. *Am J Clin Nutr* 1991; Mar;53(3):643-51.

Verkade HJ, Van Asselt WA, Vonk RJ et al. Fat absorption in premature infants: the effect of lard and antibiotics. *Eur J Pediatr* 1989; Nov;149(2):126-9.

Visonneau S, Cesano A, Tepper SA et al. Conjugated linoleic acid suppresses the growth of human breast adenocarcinoma cells in SCID mice. *Anticancer Res* 1997; Mar-Apr;17(2A):969-73.

Volmer M, Meiborg G, Muskiet FA. Simultaneous capillary gas chromatographic profiling of medium-and long-chain fatty acid methyl esters with split injection. Correction for injection-related discrimination by the 'bracketing' method. *J Chromatogr* 1988; Dec 30;434(2):385-94.

Wolff, R.L. Content and distribution of trans-18:1 acids in ruminant milk and meat fats. Their importance in European diets and their effect on human milk. *J Am Oil Chem So.* 1995;72:259-72.

Wu D, Meydani M, Leka LS et al. Effect of dietary supplementation with black currant seed oil on the immune response of healthy elderly subjects. *Am J Clin Nutr* 1999; Oct;70(4):536-43.

Yang ZH, Miyahara H, Mori T, et al. Beneficial effects of dietary fish-oil-derived monounsaturated fatty acids on metabolic syndrome risk factors and insulin resistance in mice. *J Agric Food Chem*. 2011 Jul 13;59(13):7482-9. Epub 2011 Jun 10.

Yao JK, Sistilli CG, van Kammen DP. Membrane polyunsaturated fatty acids and CSF cytokines in patients with schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2003; Dec;69(6):429-36.

Yehuda S, Carasso RL, Mostofsky DI. Essential fatty acid preparation (SR-3) raises the seizure threshold in rats. *Eur J Pharmacol* 1994; Mar 11;254(1-2):193-8.

Zevenbergen JL, Haddeman E. Lack of effects of trans fatty acids on eicosanoid biosynthesis with adequate intakes of linoleic acid. *Lipids* 1989; Jun;24(6):555-63.

