

Claudia Azucena
Betancourt López

Efecto del ácido linoleico conjugado (CLA) en la síntesis de
los AG de la coneja lactante

2022



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

Efecto del ácido linoleico conjugado (CLA) en la síntesis de
los AG de la coneja lactante.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Doctor en Ciencias Biológicas

Presenta:

Claudia Azucena Betancourt López

Dirigido por:

María Guadalupe Bernal Santos

Querétaro, Qro. Febrero 2022

- Escudo y letras doradas

- Pastas duras color negro, tamaño carta



Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Doctorado en Ciencias Biológicas

Efecto del ácido linoleico conjugado (CLA) en la síntesis de los AG de la coneja lactante.

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Biológicas

Presenta:

Claudia Azucena Betancourt López

Dirigido por:

María Guadalupe Bernal Santos

SINODALES

Dra. María Guadalupe Bernal Santos
Presidente

Dra. Araceli Aguilera Barreyro
Secretario

Dra. Tércia Cesária Reis de Souza
Vocal

Dr. Fausto Arellano Carbajal
Suplente

Dr. Gerardo Mariscal Landín
Suplente

Dr. José Guadalupe Gómez Soto
Director de la Facultad de
Ciencias Naturales

Dra. María Guadalupe Flavia Loarca Piña
Director de Investigación
y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Febrero 2022
México

Resumen

La leche de la coneja contiene entre 38.4 y 40.9 mg/100mg de ácidos grasos (AG). Incluidos en su perfil se han encontrado isómeros de ácido linoleico conjugado (CLA, por sus siglas en inglés). El objetivo fue evaluar la suplementación de CLA en conejas, durante los primeros 12 días del postparto sobre el perfil de los AG de la leche, realizándose experimentos para evaluar: 1) si la fermentación cecal contribuye con la producción de CLA de la leche buscando la relación entre los perfiles de AG de los cecotrofos y la leche. 2) si los isómeros de CLA afectan la composición química (CQ) y los AG de la leche. Fueron empleadas conejas multiparas distribuidas al azar entre dos tratamientos experimentales: 1) administración oral de 1 ml de agua; 2) administración oral de 310 mg/kg de peso metabólico (PM) de CLA. La administración de los tratamientos se efectuó durante los días 5 al 12 postparto, en los cuales se colectaron muestras de leche, cecotrofos y heces duras. La leche se colectó manualmente en los días 5, 6, 8, 10 y 12. Los cecotrofos y heces duras se colectaron en los días 7, 9 y 11. Se encontraron correlaciones altas significativas ($P < 0.0001$) entre los AG de los cecotrofos y de la leche para AG totales y los AG 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:0, 18:1 *trans*-6/8, 18:1 *trans*-9, 18:1 *cis*-9, 18:2 n-6, 18:3 n-3, 20:1 *cis*-9, 20:2 n-6 y 22:0. La suplementación con CLA modificó los AG de la leche incrementando: 18:2 *cis*-9, *trans*-11, CLA *trans*-10, *cis*-12, 21:0 y el índice de desaturación CLA *cis*-9, *trans*-11/18:1 *trans*-11, y reduciendo: 17:1 *cis*-9, 18:1 *trans*-16, 18:2 ω -6, 20:1 *cis*-9, 20:3 ω -3, 20:3 ω -6 y 22:4 ω -6. El perfil de los AG de la leche puede ser influenciado por los AG del alimento y del cecotrofo, aportándole AG modificados y características químicas distintivas que incluyen AG esenciales y biológicamente activos tales como el CLA. La suplementación con CLA no modificó la CQ de la leche, sin embargo, sí redujo algunos AG de cadena larga, e incrementó a los isómeros de CLA, al AG 21:0 y el índice de desaturación.

(Palabras clave: cecotrofia, ácido vaccénico, ácido graso, conjugado).

Summary

Rabbit milk contain 38.4 to 40.9 mg/100mg of fatty acids (FA). Included into profile milk FA of rabbit milk had been found some isomers of CLA (Conjugated Linoleic Acid). The objective to assess CLA supplementation in rabbits during the first 12th days of postpartum on Fatty Acid (FA) profile, performing experiments for evaluating 1) if caecal fermentation contributes to CLA production in rabbits' milk, looking for the relationship between the FA profile of cecotrophs and that of milk fat, 2) whether CLA isomers affect chemical composition and milk fatty acid profile. It was employed multiparous female rabbits, randomly distributed between two experimental treatments. 1) oral administration of 1 ml of water; and 2) oral administration of 310 mg/kg of metabolic body weight (MBW) of CLA. CLA administration was made on 5th to 12th day, during those days were collected milk, cecotrophs and hard feces samples. The milk was collected through manual milking has been made on 5th, 6th, 8th, 10th and 11th days. The collection of feces was made on 7th, 9th and 11th days. Significant high correlations ($P < 0.0001$) were observed between cecotrophs and milk for total FA, and for FA 12:0, 14:0, 15:0, 16:0, 18:0, 18:1 *trans*-6/8, 18:1 *trans*-9, 18:1 *cis*-9, 18:2 n-6, 18:3 n-3, 20:1 *cis*-9, 20:2 n-6 and 22:0. CLA supplementation modified that FA from milk increasing: 18:2 *cis*-9, *trans*-11, CLA *trans*-10, *cis*-12, 21:0 and desaturation index CLA *cis*-9, *trans*-11/18:1 *trans*-11 and reducing: 17:1 *cis*-9, 18:1 *trans*-16, 18:2 ω -6, 20:1 *cis*-9, 20:3 ω -3, 20:3 ω -6 y 22:4 ω -6. The milk FA profile can be influenced by both feed and cecotroph FA profiles, contributing for modified FA, additionally distinctive chemical characteristics, what include essential FA and biologically active such as CLA. The CLA supplementation not modified chemical composition of milk, however reduced some long chain FA, and increased CLA isomers, FA 21:0 and desaturation index.

(Key words: cecotrophy, vaccenic acid, fatty acid, conjugated).

Dedicatorias

Principalmente a Dios por permitirme vivir todo un cúmulo de situaciones repletas siempre de aprendizaje.

A la Virgen María por acompañarme en todo momento.

A mi Familia entera, incluidas personas de este mundo, personas espirituales y mascotas, por el apoyo que he recibido de ellos para permanecer en el posgrado.

A mis Padres, Simón Betancourt Grado (-en la eternidad Pá- porque sé que has visto el esfuerzo y sin saber cómo he cumplido una promesa) y Martha López (a veces fue difícil comprender porque se pasan muchas horas en un laboratorio).

A mis hermanos y sobrinos.

Los llevo siempre en mi mente y les dedico este trabajo, el cual para mí ha sido un trabajo hecho con humildad, cariño y asombro por el conocimiento.

Agradecimientos

Principalmente agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y al Doctorado en Ciencias Biológicas de la FCN-UAQ incorporado al Padrón Nacional de Posgrados de Calidad PNPC-CONACYT.

Un especial agradecimiento a los Doctores, Dale E. Bauman, Kevin J. Harvatine y Cinthya Srigley por su apoyo, consultoría e intervenciones para finalizar con la investigación de los ácidos grasos y el CLA.

Al Dr. Pedro Vázquez Landaverde y el Laboratorio de Química del CICATA del Instituto Politécnico Nacional Querétaro por su colaboración para la realización de los análisis cromatográficos.

A la Dra. Mariela Camacho Barrón y al Laboratorio de Nutrición Humana de la FCN-UAQ por permitirnos el acceso a sus instalaciones y equipos.

A la M en C. María del Rocío Parada Hernández Gerente del Centro Nacional de Cunicultura de Irapuato, Guanajuato por la autorización de la colecta de muestras de leche para complementar los análisis necesarios para la realización de este trabajo.

A la M en C. Delia Gaspar Sánchez y el Laboratorio Ciencia de la Leche del CEIEPA-UNAM Tequisquiapan por su colaboración para realizar los análisis complementarios para la composición química de la leche.

A mi asesora la Dra. María Guadalupe Bernal Santos por aceptarme como alumna, por su paciencia y por la transmisión de sus conocimientos.

Al Comité sinodal formado por los Doctores, Araceli Aguilera Barreyro, Tercia Cesaria Reis de Souza, Fausto Arellano Carbajal y Gerardo Mariscal Landín por la aportación de sus opiniones, conocimientos y contribución para realizar la investigación que hemos finalizado.

A la M en C. Susana Lucía Sosa Gallegos y el Laboratorio de Microbiología de FCN-UAQ por la asesoría recibida, así como por permitirme usar el espacio y los equipos del laboratorio de Microbiología de la FCN.

Al personal del Campi Regional Amazcala UAQ por su colaboración para la permanencia y cuidado de los animales del Módulo Cunícola.

A nuestro patrocinador Malta Texo de México S.A. de C.V. por la aportación de alimento para conejos reproductores durante los experimentos.

A los alumnos de la Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia y de la Maestría en Ciencias Biológicas por su colaboración durante los experimentos.

Al Laboratorio de Nutrición Animal FCN-UAQ y su personal, al Dr. Konisgmar Escobar García, al Dr. José Guadalupe Soto Gómez, a la QA. Aurora Jauregui Mejía y a la T.H. Leticia Castillo por su contribución y participación en los experimentos.

A mis compañeros y amigos de la FCN-UAQ.

¡Porque sin todos ellos la experiencia vivida en el DCB no hubiera sido la misma!

Índice

Resumen.....	i
Dedicatorias	iii
Agradecimientos.....	iv
Índice.....	vi
Índice de cuadros	vii
Índice de figuras	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1. Características fisiológicas y microbiológicas del aparato digestivo del conejo.....	3
2.2. La digestión en el conejo.....	9
2.3. El origen del ácido linoleico conjugado (CLA)	18
2.4. La suplementación de grasas en las conejas lactantes.....	22
2.4.1. El CLA en la coneja lactante.	26
III. HIPÓTESIS	27
IV. OBJETIVOS	27
4.1. Objetivo general	27
4.2. Objetivos específicos.....	27
V. METODOLOGÍA.....	27
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
VII. CONCLUSIONES.....	47
VIII. LITERATURA CITADA.....	49

Índice de cuadros

Cuadro 1. Porcentaje de modificación de AG del coágulo de leche de conejas, suplementadas con diferentes niveles de CLA (adaptado de Betancourt, 2013).	21
Cuadro 2. La composición química y el perfil de los AG del alimento para conejas lactantes.	31
Cuadro 3. Parámetros productivos y composición química de la leche de conejas suplementadas con CLA durante los primeros 12 días de lactancia.	33
Cuadro 4. Perfil de los ácidos grasos de la leche de conejas lactantes durante los primeros 12 días de la lactancia.	34
Cuadro 5. Perfil de los ácidos grasos de la grasa de leche de las conejas suplementadas con isómeros de CLA <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 y <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 ¹ .	37
Cuadro 6. Media mínima cuadrada de los ácidos grasos presentes en el cecotrofo y en la leche de conejas durante los primeros 12 días de la lactancia, y su coeficiente de correlación.	41
Cuadro 7. Perfil de los ácidos grasos de los cecotrofos y las heces duras de las conejas durante los primeros 12 días de lactancia ¹ .	43

Índice de figuras

Figura 1. Esquema de la digestión del alimento en el conejo.	3
Figura 2. Proceso de síntesis de palmitato (Nelson y Cox, 2009).	13
Figura 3. Transferencia de grupos acetilo desde la mitocondria hasta el citosol (Nelson y Cox, 2009).	14
Figura 4. Regulación de la oxidación de los ácidos grasos en la mitocondria (Qu et al., 2016).	15
Figura 5. Oxidación de los ácidos grasos: β oxidación (Nelson y Cox, 2009).	16
Figura 6. Síntesis y secreción de lípidos en la leche de los rumiantes (Adaptado de Chilliard et al., 2001 en Martínez et al., 2010).	17
Figura 7. Las conejas experimentales durante la colocación del collar isabelino para la colecta de las heces.	29

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los nutrientes más importantes en el metabolismo energético de los seres vivos son los lípidos, los cuales aportan energía, además son una importante reserva energética para que el organismo pueda mantener las funciones fisiológicas básicas y contribuir a la preservación de las especies a través del mantenimiento de la gestación y de la lactancia.

Entre los lípidos de mayor importancia, se encuentran los ácidos grasos (AG) esenciales, los cuales deben ser suministrados en los alimentos debido a la deficiencia de enzimas en los tejidos animales para su formación (Maertens, 1998), así como los AG poli-insaturados (AGPI) con importantes efectos biológicos, tal es el caso de los isómeros del ácido linoleico conjugado (CLA por sus siglas en inglés) *cis-9,trans-11* y *trans-10,cis-12*, considerados como componentes bioactivos de los productos lácteos provenientes de animales rumiantes (Bauman y Lock, 2006). Los isómeros de CLA presentan diferentes efectos, por ejemplo: el CLA *cis-9,trans-11* ha demostrado tener efecto anticancerígeno en los tejidos mamario y epitelial, y el CLA *trans-10,cis-12* es conocido por su efecto antiaterogénico y antilipogénico (Anderson et al., 2007).

En los conejos el CLA ha sido evaluado con relación a la calidad de la carne (Corino et al., 2007) así como para conocer su efecto sobre la prevención de aterosclerosis (Krichevsky, 1999). Sobre su efecto antilipogénico, el CLA ha demostrado deprimir la síntesis de la grasa en la leche bovinos y cabras lecheras. En las conejas lactantes no ha sido evaluado el efecto del CLA sobre la síntesis de lípidos en su leche. La leche de coneja contiene hasta 13% de grasa, siendo la síntesis *de novo* en el tejido mamario la principal vía biosintética responsable de la formación de más del 90 % de los AG de la leche (Mellenberger y Bauman, 1974), motivo por el cual en esta especie se podría demostrar el efecto antilipogénico del CLA sobre los AG de cadena corta de su leche.

Algunos estudios con conejas lecheras han reportado la presencia de CLA en la grasa de la leche, sin que se indique el tipo de isómeros presentes

(Kowalska y Bielanski, 2004). En uno de los últimos estudios con conejas durante el inicio de la lactancia, se logró identificar a los isómeros del CLA *cis-9,trans-11* y *trans-10,cis-12*, pero no se alcanzó a hacer evidente el efecto antilipogénico del CLA cuando fue suplementado oralmente (Betancourt, 2013).

En rumiantes se ha demostrado que el CLA presente en la leche bovina proviene del ácido vaccénico sintetizado por las bacterias ruminales, el cual al ser tomado por la glándula mamaria es convertido en CLA gracias a la presencia de la enzima Δ^9 -desaturasa (Grinari y Bauman, 1999). Sin embargo, en la coneja se desconoce el origen del CLA presente en su leche, por lo cual, se propone la teoría, de que también se deriva del ácido vaccénico producido durante la fermentación cecal, pudiendo ser recuperado a través de la cecotrofia, alcanzando el tejido mamario y transformándose en el isómero de CLA *cis-9,trans-11* por la enzima Δ^9 -desaturasa .

Con base en lo anterior, se diseñaron dos estudios para evaluar: 1) si existe una relación entre el perfil de los AG de la leche, y el perfil de los ácidos grasos de los cecotrofos para poder explicar la presencia del CLA en la leche de las conejas, y 2) el perfil de los AG de la leche de conejas suplementadas o no con CLA.

II. ANTECEDENTES

2.1. Características fisiológicas y microbiológicas del aparato digestivo del conejo.

Los conejos pertenecen a la familia de los lagomorfos, los cuales presentan características anatómicas que los diferencian de otras especies por su aparato digestivo y el proceso de digestión de los alimentos.

Una estructura sobresaliente es el ciego, ya que además de tener una capacidad mayor del 40% del total del aparato digestivo, contiene una importante población microbiana capaz de fermentar el alimento consumido que llega a este compartimento.

Fisiológicamente, la digestión del alimento en el conejo es peculiar, en virtud de que éste es digerido dos veces a través de su aparato digestivo como se muestra en la Figura 1.

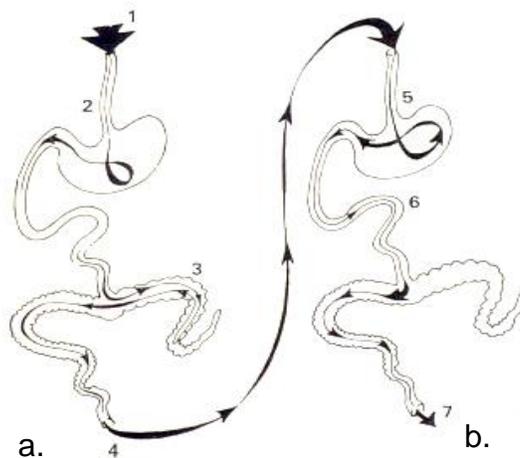


Figura 1. Esquema de la digestión del alimento en el conejo.

- a) primer paso del alimento a través del estómago, intestino delgado, ciego y colon. b) segundo paso del alimento (cecotrofo) a través del estómago, intestino delgado y colon (Lebas et al., 1996).

Durante la primera digestión (Figura 1a), el alimento pasa por el esófago (1) comienza su digestión en el estómago (2) y es procesado a través del intestino

delgado hasta el ciego (3) donde se forma un tipo de heces llamadas cecotrofos, las cuales contienen residuos del alimento y otros nutrimentos modificados por la flora cecal, que una vez formados son ingeridos por el animal tomándolos con la boca directamente del ano (4). Los nutrimentos presentes en el cecotrofo todavía pueden ser aprovechados por el animal al ser reingeridos (Figura 1b) sometidos nuevamente al proceso de digestión, siguiendo su paso por el esófago (5), estomago (2) e intestino (6). Sin embargo, ya no vuelven a transitar por el ciego, debido a que la válvula ileocecal selecciona el paso hacia el colon donde se forman las heces duras, las cuales son eliminadas por el ano (7) y finalmente arrojadas al suelo (Lebas et al., 1996).

La fermentación cecal es un proceso relevante en la digestión de los conejos, ya que este compartimento contiene una población bacteriana compuesta principalmente por los géneros *Bacteroides*, *Clostridium*, *Streptococcus* y *Enterobacter*, todos los cuales son importantes recicladoras de amonio, ureolíticas, proteolíticas, celulolíticas y amilolíticas (De Blas y Wiseman, 1998). Las especies y géneros de estas bacterias dependen de la edad de los animales, así como del tipo de alimento que consumen.

El funcionamiento del ciego en todas las especies puede compararse con el del rumen por ser compartimentos con una actividad fermentadora importante. En el caso del conejo, se ha observado que su actividad fibrolítica es menor que en el rumiante, mientras que la amilolítica y la proteolítica son mayores, además que el ciego del conejo tiene una importante la actividad pectinolítica y la xilanolítica, lo que puede indicar un nivel elevado de fermentación de las fracciones de fibra y una mejor digestibilidad para el conejo (Gidenne, 1997).

En el ciego del conejo se encuentran bacterias aerobias y anaerobias, las cuales se han evaluado en las diferentes etapas del ciclo de vida de los animales, incluyendo el postdestete, durante la engorda y la finalización de la etapa de la engorda. En promedio se ha encontrado que los microorganismos anaerobios representan en promedio el 76.6% y los aerobios el 23.3%. Entre las bacterias aerobias estrictas y facultativas que se encuentran en el ciego, se encuentran diferentes proporciones de algunas familias: Proteae 1%, Bacillaceae 10%,

Corinebacteriaceae 16%, Artrobacteriaceae 15%, Enterobacteriaceae 26%, Streptococaceae 8% y Pseudomonaceae 25% (Comi y Cantoni, 1984).

Otras investigaciones muestran la identificación de bacterias en el contenido cecal, en donde se han aislado algunos géneros bacterianos y algunas especies tales como *Bacteroides* (Papadomichelakis et al., 2010), *Clostridium* y *Escherichia coli* (Padilha et al., 1995; Gidenne, 1997), *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Bifidobacterium* (Comi y cantoni, 1984), *Eubacterium cellulosolvens* (Papadomichelakis et al., 2010).

El género *Bacteroides* es un grupo de bacterias anaerobias, Gram-negativas, no esporuladas, con actividad pectinolítica, xilanolítica y celulolítica (Papadomichelakis et al., 2010), relacionadas con la producción de los ácidos fórmico, acético y succinato (Van Soest, 1982; Papadomichelakis et al., 2010), así como de la producción de los ácidos valérico e isobutírico, aunque también tiene efecto sobre los ácidos grasos que son empleados para la síntesis de fosfolípidos (Sanz et al., 2006). De los AG que produce, el isobutírico es usado principalmente en la formación de los AG de cadena par C14:0 y C16:0 y el ácido valérico para la formación de AG de cadena impar C13:0 y C15:0 (Hobson y Stewart, 1997). En el contenido del ciego de los conejos se ha observado la dominancia de Flexibacter - Cytophaga- Bacteroides que produce el ácido butírico (Kimsé et al., 2009).

El género *Clostridium* es un grupo de bacterias anaerobias, Gram-positivas, con actividad celulolítica produciendo a los ácidos acético, propiónico, butírico, fórmico, H₂ y CO₂. Este conjunto de bacterias se encuentra frecuentemente en el ciego, pudiéndose encontrar en conejos en etapa de crecimiento (Gidenne, 1997) y en adultos (Amici et al., 1998). En conejos adultos se ha visto que una dieta alta en proteína (>16%) favorece su proliferación.

El género *Bifidobacterium* (Sanz et al., 2006) son bacterias Gram-positivas, anaerobias, que catabolizan glucosa formando a los ácidos acético y láctico. Dichos microorganismos son parte de la flora intestinal, pudiéndose encontrar en los conejos recién destetados, así como durante el crecimiento y en animales adultos (Comi y Cantoni, 1984).

Las bacterias *Escherichia coli* son bacterias Gram-negativas, anaerobias facultativas, que fermentan glucosa y lactosa, además de tener actividad reductora sobre nitratos y nitritos, incluso también producen a las vitaminas B y K (Molina y Eslava, 2014). Estas bacterias son influenciadas por las proteínas, mostrándose incrementada su prevalencia cuando la dieta es alta en contenido proteico (Gidenne, 1997).

El género *Streptococcus* son bacterias Gram-positivas, algunas veces se consideran anaerobias facultativas. Tiene una amplia variedad de sustratos que incluyen, por ejemplo: almidón, maltosa, celobiosa, sucrosa, glucosa, galactosa, manosa y lactosa, dando como resultado de su actividad la formación de ácido láctico (Hobson y Stewart, 1997).

El género *Staphylococcus* son bacterias Gram-positivas, no esporuladas, que pueden ser aerobias o anaerobios facultativas, pueden emplear diferentes sustratos como, ácidos grasos, proteínas y carbohidratos (Comi y Cantoni, 1985).

También se ha encontrado en el contenido cecal del conejo al género *Eubacterium* (Papadomichelakis et al., 2010) el cual tiene actividad celulolítica y produce acetato a partir de CO_2 y H_2 ; algunas especies degradan xilanos en lugar de celulosa. Son bacterias Gram-positivas y son consideradas bacterias que no usan carbohidratos (Hobson y Stewart, 1997). Asimismo, se ha identificado al grupo de bacterias *Lactobacillus* durante el transcurso de vida de los conejos (Comi y Cantoni, 1985; Amici et al., 1998), las cuales son bacterias Gram-positivas, que producen ácido láctico y pueden fermentar diferentes sustratos como, sucrosa, rafinosa, lactosa entre otros (Hobson y Stewart, 1997), adicionalmente a la producción del ácido láctico también forman, ácido acético, etanol, CO_2 , ácido fórmico y ácido succínico (Samaniego y Sosa, 2000).

Papadomichelakis et al. (2010) menciona la relación de la presencia de AG de cadena par e impar en el ciego, en donde se aislaron 3 grupos distintos de bacterias anaerobias con actividad fibrolítica en el intestino grueso, las cuales tuvieron actividad celulolítica, xilanolítica y pectinolítica. El género bacteriano que tuvo mayor actividad celulolítica fue *Eubacterium cellulosolvens*, mientras que la

actividad xilanolítica y pectinolítica fue llevada a cabo por *Bacteroides ruminicola*. También se ha propuesto la relación de que, las bacterias Gram-positivas están principalmente asociadas a los AG y a los AG de cadena ramificada, así como con sus isómeros, por ejemplo, el ácido isobutírico; y que las bacterias Gram-negativas están compuestas por AG lineales saturados y de cadena impar.

Aunque la microbiota del ciego ya ha sido analizada, posiblemente sean requeridos más estudios que permitan conocer el completo perfil bacteriano, ya que son escasas las investigaciones que mencionan a algunos géneros y especies. Por esta razón resulta interesante poder comparar las poblaciones bacterianas del ciego de los conejos con el rumen de los bovinos y así poder especular acerca de los microorganismos que se espera encontrar en el medio cecal.

En uno de los estudios más recientes realizados en conejos de engorda se analizó la microbiota de los cecotrofos y heces duras de conejos Rex con alto y bajo peso vivo. En las heces duras fueron identificados de 10 a 41 taxa bacterianos, tales como Ruminococcaceae, Clostridium Lactococcus, Barnesiellaceae, Lactobacillus, Parabacteroides, entre otros. Mientras que en las heces duras fueron identificadas de 6 a 7 taxa, tales como, RF32, Alphaproteobacteria, Sutterella, Tenericutes, Cyanobacteria, Bacteroidales (Zeng et al., 2015). Cabe mencionarse que sería primordial que los análisis de la microbiota continúen para poder identificar a las bacterias responsables de la formación de los isómeros de CLA en esta especie.

Algunas de las bacterias que han sido identificadas en las heces o en el ciego de los conejos pueden participar en el procesamiento de los AG, además de que las bacterias también tienen las vías de formación de AG que brindan estructura a su propio soporte celular (Řezanka y Sigler, 2009).

Para poder especular sobre el tipo de microorganismos que podrían esperarse en el contenido cecal con respecto a la modificación de los AG de cadena larga, ha sido necesario comparar la actividad de las bacterias ruminales y la probable actividad bacteriana en los AG del ciego. El rumen es un

compartimento de fermentación en donde los AG contenidos en el alimento son modificados por reacciones de biohidrogenación y por la actividad lipolítica de las bacterias (Bauman y Griinari, 2003). Por otro lado, el ciego de los conejos también es un compartimento de fermentación donde tendrían que llevarse a cabo las reacciones que modifican a los AG (lipólisis, biohidrogenación e isomerización), por lo que la actividad de las enzimas lipasas e hidrogenasas deberían ser activas en el medio cecal. Entre las bacterias que ya se han aislado del contenido cecal y que pudieran también estar incluidas dentro del perfil bacteriano se encuentra el grupo de *Anaerovibrio lipolytica*, el cual es Gram-negativo con actividad de lipasas asociadas a su membrana externa, este grupo emplea diferentes sustratos como ribosa, triglicéridos, fosfolípidos, algunos aminoácidos, también hidroliza lípidos y actúa sobre el glicerol fermentándolo a propionato y succinato (Hobson y Stewart, 1997).

Otro grupo bacteriano sería *Butirivibrio*, las cuales son bacterias Gram-negativas, anaerobias, tienen menor actividad celulolítica y mayor amilolítica; puede actuar sobre diferentes sustratos como monosacáridos y disacáridos, el resultado de su actividad es la formación del ácido butírico. Este grupo bacteriano es activo sobre los AG de cadena larga como lo es el ácido linoleico, por la enzima linoleato isomerasa, que se encuentra en las membranas de la bacteria produciendo al ácido linoleico conjugado C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (Castillo et al., 2013) y al C18:1 *trans*-11 (Hobson y Stewart, 1997).

Ya que en el perfil de los AG de los conejos en engorda presenta algunos AG octadecanoicos (18 carbonos), se propone la presencia en el ciego de *Ruminococcus albus*, bacterias Gram-positivas (Hobson y Stewart, 1997) que son responsables de la síntesis de los AG de 18 carbonos (C18:0) y AG insaturados y poliinsaturados (C18:1, C18:2, C18:3), pueden sintetizar también al ácido vaccénico C18:1 *trans*-11, que es el precursor del CLA en los rumiantes a nivel ruminal y en el tejido mamario. Posiblemente en la coneja este grupo bacteriano también esté formando ese ácido graso a nivel cecal, siendo del mismo modo precursor de CLA en el tejido mamario. El género *Fusocillus* tiene actividad sobre los AG: linolénico, ácido oleico *cis*-9, el ácido linoleico y al isómero CLA *cis*-9, *cis*-

12 lo convierte a ácido esteárico y el ácido linoleico a C18:1 *cis*-15n (Kemp y Lander, 1984; Castillo et al., 2013).

También algunas especies del género *Propionobacterium*, los cuales son bacilos Gram-positivos, no esporulados, producen a los ácidos, propiónico, acético, succínico y CO₂; estas bacterias pueden producir ácido propiónico empleando como sustrato al ácido láctico (Hobson y Stewart, 1997). Algunas especies como *Propionobacterium filicina* hidrogena al ácido linoleico, *P. acnés* tiene la cualidad de producir CLA *trans*-10, *cis*-12 a partir del ácido linoleico porque tiene un cofactor FAD (Flavin Adenin Dinucleótido) que transfiere el H del carbono 9 al carbono 10 (Castillo et al., 2013).

En humanos también se han conducido análisis de bacterias del intestino grueso para identificar su participación en la formación de CLA, estudios en los que se ha observado que a pesar de no contener gran amplitud de géneros bacterianos como en el rumen, esas bacterias únicas como los Lactobacilos y Bifidobacterias tienen la capacidad de formar isómeros de CLA *cis*-9,*trans*-11 y *trans*-10,*cis*-12 (Wallace et al., 2007) y posiblemente en el conejo también una única bacteria pudiera tener la capacidad de formar los isómeros de CLA. Sin embargo, las bacterias encontradas en el intestino de los conejos no han sido evaluadas para identificar su participación en la formación del CLA.

2.2. La digestión en el conejo.

Los conejos al ser animales herbívoros consumen forrajes, gramíneas y leguminosas, todos los cuales aportan diferentes proporciones de proteínas, carbohidratos y triglicéridos.

De manera general, a excepción de su paso por el ciego, todos los alimentos son digeridos y absorbidos de la misma manera que en los animales monogástricos. Sin embargo, esta revisión solamente describirá algunos aspectos sobresalientes relacionados con la digestión de los lípidos por su relación con la presencia del ácido linoleico conjugado en la leche de la coneja.

Los forrajes verdes son parcialmente triturados en la boca del conejo, donde la lipasa lingual (de muy baja actividad) inicia la digestión de las grasas ahí

presentes, continuándose en el estómago donde también se encuentra una lipasa gástrica que es capaz de hidrolizar a triglicéridos de cadena corta y mediana. Sin embargo, la actividad de la lipasa lingual pudiera ser importante en el estómago, porque actúa sobre los AG de cadena corta de los triglicéridos y tiene especificidad por el enlace éster en la posición n-3 (Murray et al., 2001). En el estómago el contenido permanece de 3 a 6h en donde también, se inicia la hidrólisis de proteínas por acción de la pepsina (Lebas et al., 1996; Cathy, 2006).

El alimento ingerido y procesado en el estómago que continúa hacia el intestino delgado permanece 90 minutos (Lebas et al., 1996), en donde el contenido alcalino de las secreciones pancreáticas y biliares neutralizan al quimo ácido para permitir la actividad de las enzimas contenidas en los jugos pancreático e intestinal. El jugo intestinal secretado por la mucosa intestinal contiene enzimas digestivas con actividad de carbohidratasa, proteasas y lipasas. La pared intestinal proporciona maltasa, invertasa, celobiasa, amilasa, dextranasa y lactasa. El hígado que produce la bilis tiene un papel importante en la digestión de las grasas ya que las sales biliares tienen la función de reducir la tensión superficial emulsionando a las grasas y disolviendo a los ácidos grasos, por ello es importante para la digestión y absorción de las grasas. El volumen de bilis segregado por el conejo es muy importante, vertiéndose en ésta gran cantidad de ácidos biliares a la luz intestinal. El ácido cuantitativamente más importante es el cólico el cual, es transformado en desoxicólico por los microorganismos del intestino delgado, que puede ser reabsorbido en forma glucoconjugada. El ácido láctico se presenta habitualmente en la bilis a dosis de 20 a 30 mg por 100 ml (Natalis, 1977).

La secreción pancreática contiene electrolitos que le dan carácter de pH alcalino, aportando además al medio intestinal una amilasa, una serie de fermentos proteolíticos (tripsina, quimotripsina), nucleasas, fosfolipasa, lipasa y colesterolesterasa. Las actividades lipásicas, amilásicas, tripsicas y quimotripsicas, presentan un fuerte aumento a partir del día 24 de vida del conejo. La composición del alimento puede estimular la biosíntesis de la amilasa y de la quimotripsina, aunque no parece influir sobre la secreción pancreática de

tripsinógeno y lipasa (Natalis, 1977; Murray et al., 2001). La actividad de las enzimas en el intestino delgado produce la transformación de los alimentos en compuestos que pueden ser absorbidos como los carbohidratos, monosacáridos (glucosa), aminoácidos, ácidos grasos, glicerol, mono acilglicerol, núcleo bases, nucleósidos y pentosas (Murray et al., 2001).

Posteriormente, los compuestos que hayan escapado a la absorción en el intestino delgado continúan hacia el intestino grueso que, en los conejos, presenta en la primera porción al ciego, en el que permanece de 2 a 12 horas (Lebas et al., 1996). Como se mencionó en la sección anterior, el ciego es un sitio que contiene microorganismos que actúan sobre diferentes sustratos debido a que metabolizan fracciones de fibra (paredes celulares de los vegetales y la lignina), polisacáridos, almidones y AG (Lleonart, 1999). Después del ciego, el contenido sigue su paso hacia el colon proximal y distal en el que tiene un tránsito rápido, se absorbe agua y algunos microorganismos y se recubre de moco. Se ha postulado que también el intestino grueso puede actuar como un compartimento de fermentación para alimentos semi-fermentados, siendo un mecanismo de prolongación de la fermentación de las fracciones menos densas (Lebas et al., 1996).

Después los cecotrofos son tomados directamente del ano y re-ingeridos (cecotrofia). El paso del cecotrofo a través del tracto gastrointestinal es casi similar a la primera ingestión, de la boca pasa al esófago, después al estómago, en donde se almacenan en la región fúndica, continúan hacia el intestino delgado en donde pueden absorberse los componentes disponibles (Proto, 1976). Después hacia el intestino grueso, sin entrar al ciego ya que la válvula ileocecal selecciona el paso hacia el colon para que finalmente sean desechadas las heces duras (Figura 1) (Lebas et al., 1996).

En los conejos ocurrirían reacciones de modificación de los AG de manera similar a como ocurre en los bovinos en el rumen (Griinari y Bauman, 1999), en donde, los AG provenientes del alimento y que entraron al ciego por ser remanente intestinal, pudieron modificarse por reacciones de fermentación cecal permitiendo la aparición de diferentes isómeros de AG de cadena larga que se pudieran caracterizar por ser saturados por biohidrogenación completa y algunos

AG mono-insaturados resultando de manera transitoria por biohidrogenación parcial, así como AG poli-insaturados formados por desaturación de productos mono-insaturados.

La cecotrofia entonces jugaría un papel muy importante para la ingestión de AG modificados por la fermentación cecal, siendo un proceso clave para el reciclaje de AG que pudieran ser de origen bacteriano como los AG de 15 y 17 carbonos (Řezanka y Sigler, 2009), así como los AG *trans* (Keweloh y Heipieper, 1996), entre otros.

Una vez absorbidos, los ácidos grasos son utilizados a través de complejos enzimáticos eficientes tanto para su degradación a través de la beta-oxidación, o para su reutilización mediante el mecanismo de elongación. Asimismo, se pueden sintetizar ácidos grasos a partir de glucosa o de glicerol (síntesis *de novo*) gracias a la presencia de la sintetasa de los ácidos grasos (o ácido graso sintasa) complejo enzimático que se encuentra en el retículo endoplásmico liso en el citoplasma de la célula. Este complejo contiene a las enzimas: malonil transferasa, cetoacil sintetasa, cetoacil reductasa, enoil reductasa, tioesterasa, hidroxiaxil deshidratasa y acetil transferasa. Para que comience la síntesis *de novo* se requiere a la enzima acetil coenzima-a carboxilasa (ACC) utilizando Acetil-CoA y bicarbonato para que sea carboxilado, después la transacilasa actúa sobre la Acetil-CoA para que se combine con un grupo -SH produciéndose malonil. El grupo malonil se combina con un grupo -SH formando acetil-malonil. Por la enzima cetoacil sintetasa se libera CO₂ y SH. Posteriormente el grupo 3-aceto Acilo es reducido, deshidratado y reducido formándose Acil-S; las reducciones ocurren por el NADPH+H que dona los hidrógenos y otra molécula de malonil-CoA se combina con el SH del complejo, desplazando al residuo Acilo saturado en el grupo -SH libre de la cisteína. Las reacciones se repiten seis veces incorporándose un nuevo residuo malonilo en cada secuencia, hasta que se forma un radical de 16 carbonos que es el palmitato (Figura 2) (Murray et al., 2001; Nelson y Cox, 2009).

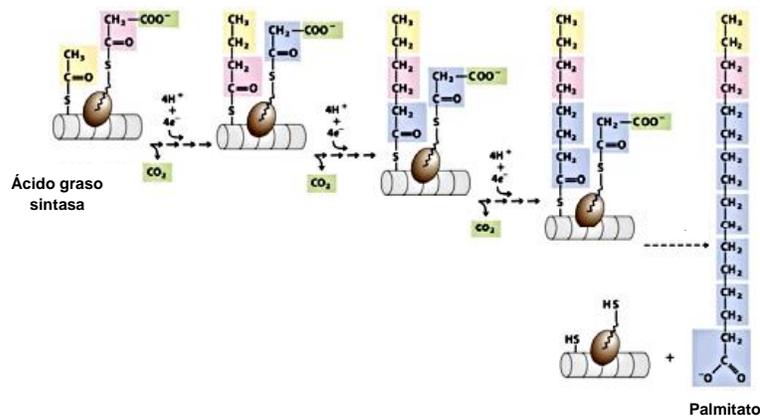


Figura 2. Proceso de síntesis de palmitato (Nelson y Cox, 2009).

La molécula fundamental en el proceso de formación de AG es la Acetil-CoA que se origina en la mitocondria. Su disponibilidad en el citoplasma se debe a las enzimas ATP-citrato liasa y por la NADP malato deshidrogenasa o enzima mítica (Figura 3) (Murray et al., 2001). El NADPH que se requiere para las reducciones del proceso de síntesis *de novo* se origina por la vía de la pentosa fosfato. Los tejidos activos en esta vía también son tejidos donde ocurre la lipogénesis activa, tales como el hepático, el adiposo y el mamario lactante. La formación del NADPH es importante en estos tejidos porque su formación es extramitocondrial, es decir no debe atravesar membranas facilitando su empleo cuando el proceso de síntesis esté activo (Murray et al., 2001).

Los AG que son sintetizados *de novo* pueden ser elongados y desaturados por las enzimas elongasas y desaturasas. El proceso incluye el alargamiento de la cadena de los AG en pares de carbonos. El donador de cada par de carbonos adicional en el retículo endoplásmico puede ser Acetil-CoA o Malonil-CoA, ambas moléculas formadas por pares de carbonos las cuales, se añaden al extremo carbonilo terminal. El alargamiento en el retículo endoplásmico es importante porque puede formar AG de hasta 26 carbonos, a dicho sistema de alargamiento del retículo endoplásmico se le denomina microsomal y es realizado por la intervención de las enzimas antes mencionadas (Murray et al., 2001).

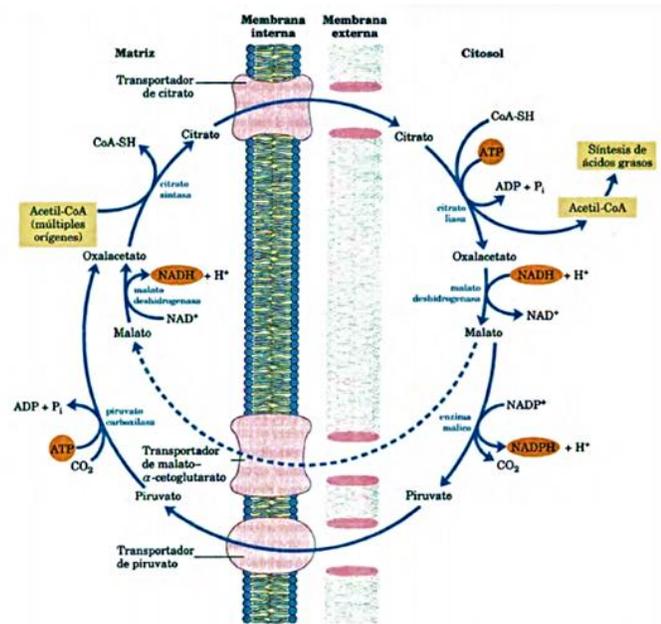


Figura 3. Transferencia de grupos acetilo desde la mitocondria hasta el citosol (Nelson y Cox, 2009).

Los AG circulantes o AG libres a través del organismo son también integrados al tejido adiposo que actúa como reserva corporal. Las células adiposas sintetizan adicionalmente AG que pueden ser liberados del tejido adiposo para aportar energía. Sin embargo, la disponibilidad de los AG libres requiere la actividad de diferentes enzimas como, la lipasa lipoproteica o lipoproteína lipasa ubicada en los capilares sanguíneos la cual, libera a los AG de los triglicéridos (Nelson y Cox, 2009) para que puedan estar disponibles por los tejidos, sean oxidados para obtener energía o para continuar siendo almacenados.

Los tejidos de los organismos vivos requieren de combustible para llevar a cabo sus funciones fundamentales y las funciones productivas. En el caso del tejido mamario, este tejido requiere del uso de energía para poder sintetizar la leche además de mantenerse funcional. Sin embargo, para que esta función de síntesis pueda llevarse a cabo, necesita obligatoriamente de la oxidación de diferentes sustratos como son los AG.

Para que los AG sean distribuidos en el organismo deben ser transportados a través del plasma combinados con la proteína albúmina dando lugar a los AG no esterificados. El complejo ácidos grasos-albumina se adhiere a las células por la

proteína Z. Los AG solo serán activos por la enzima Acil-CoA sintetasa también llamada tiocinasa, la cual se encuentra en el retículo endoplásmico liso y membrana externa de la mitocondria. Dicha enzima cataliza la conversión de un AG libre a un AG disponible para que sea empleado en los tejidos. También la enzima pirofosfatasa inorgánica asegura que esta reacción sea completada, ya que permite que el pirofosfato aporte la energía necesaria para complementar la reacción de la activación (Barret et al., 2016).

Para que sean oxidados los ácidos grasos, deben entrar a la mitocondria, ya que únicamente en ese sitio son oxidados. La entrada de los AG es permitida por la enzima llamada carnitina. Los AG de cadena larga requieren a la enzima carnitin palmitoil-transferasa I (CPTI), la cual, se encuentra en la membrana externa, esta enzima convierte a los grupos Acil-CoA de cadena larga en Acilcarnitina, que es el producto que puede atravesar la membrana mitocondrial; después la carnitina-Acilcarnitina translocasa consiente el intercambio de carnitina. La Acil-carnitina se transporta hacia el interior y una carnitina se libera al exterior. Después la enzima carnitina palmitoiltransferasa II (CPTII) actúa sobre la Acil-carnitina que reacciona con CoA, finalmente en el interior se separa la carnitina y se forma Acil-CoA (Qu et al., 2016).

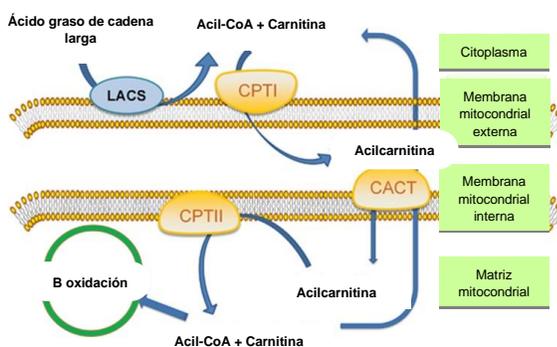


Figura 4. Regulación de la oxidación de los ácidos grasos en la mitocondria (Qu et al., 2016).

El proceso de oxidación de los AG (la β -oxidación) comienza cuando ha entrado el grupo Acilo a la mitocondria, iniciando con la eliminación de dos átomos de hidrógeno en el extremo carboxilo entre los carbonos 2 α y 3 β , reacción que se

produce por la Acil-CoA deshidrogenasa, la cual contiene FAD, formándose Δ^2 -trans-enoil-CoA. El doble enlace se satura con agua por la enzima Δ^2 -enoil-CoA hidratasa y se forma 3-hidroxiacil-CoA. Posteriormente, la 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa que incluye NAD quita un hidrógeno en el carbono 3 formando 3-cetoacil-CoA. Finalmente, la enzima tiolasa actúa sobre la 3-cetoacil-CoA formando Acetil-CoA y Acil-CoA de dos carbonos menos en la molécula, ésta última regresa a la vía de oxidación al nivel de la actividad de la Acil-CoA deshidrogenasa, para continuar con el ciclo de oxidación (Figura 5) (Nelson y Cox, 2009).

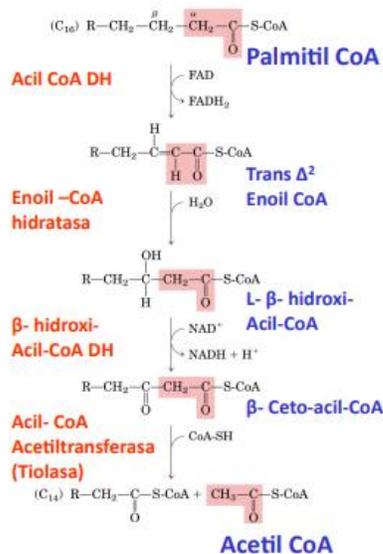


Figura 5. Oxidación de los ácidos grasos: β oxidación (Nelson y Cox, 2009).

La grasa de la leche es uno de los componentes más importantes, característica por la cual, el valor económico se incrementa y adicionalmente tiene la particularidad de que, de todos los componentes químicos, la concentración de la grasa es la única que puede ser modificada. La modificación o modulación de la grasa de la leche de la coneja, se puede lograr a través de la suplementación de AG que pueden ser de origen animal o vegetal (Fortun, 1997). Con respecto al CLA, el cual es un AG conjugado tiene la cualidad de modificar el perfil de los AG de la leche, reduciendo incluso el porcentaje de grasa en animales rumiantes.

Durante la síntesis de grasa de la leche que ocurre en el tejido mamario, se producen lípidos constituidos por AG que son originados por dos vías, la primera es la síntesis *de novo*, producida por la Ácido Graso Sintetasa (Wright et al., 2006), y de la toma de AG preformados circulantes en el plasma (Anderson et al., 2007) los cuales provienen de las reservas corporales o de los AG ingeridos en la dieta (Figura 6).

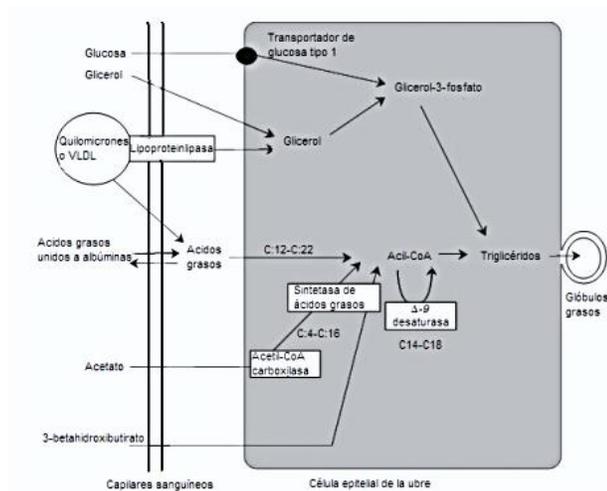


Figura 6. Síntesis y secreción de lípidos en la leche de los rumiantes (Adaptado de Chilliard et al., 2001 en Martínez et al., 2010).

La importancia relativa de cada fuente de síntesis de AG varía entre especies, en el caso de los rumiantes, el 50% de la grasa de la leche se produce a partir de la síntesis *de novo* (Angulo et al., 2009). Los conejos son animales con características lecheras peculiares, ya que alrededor del 90% de los lípidos elaborados en el tejido mamario se originan de la síntesis *de novo*, siendo los AG predominantes los de cadena mediana 8:0, 10:0 y el 12:0 (Mellenberger y Bauman, 1974). En la coneja se presentan dos períodos importantes de estimulación lactogénica. El primero ocurre en los días 21 a 22 de la gestación incrementándose el contenido de lactosa y síntesis de ácidos grasos. El segundo estímulo se presenta cerca del parto, aumentando la síntesis de AG y la actividad de las enzimas lipogénicas (Mellenberger y Bauman, 1974).

De esta forma en el tejido mamario se llevan a cabo actividades bioquímicas para la formación de AG *de novo* y, adicionalmente procesos para la

elongación de los AG, realizados por enzimas que trabajan de manera simultánea como, las desaturasas que permite la inclusión de dobles enlaces en los AG sintetizados o transferidos al tejido mamario (Angulo et al., 2009).

Cabe destacarse que los procesos de elongación y desaturación son también vías con destacada importancia en el tejido mamario ya que en el perfil de los AG de la leche o en el coágulo lácteo se encuentran una amplia variedad de AG poli-insaturados como el linoleico y gama linolénico, así como los isómeros de CLA *cis-9,trans-11* y *trans-10,cis-12* (Maertens et al., 2006; Betancourt, 2013).

2.3. El origen del ácido linoleico conjugado (CLA)

El ácido linoleico conjugado (CLA) es un grupo de isómeros derivado del ácido linoleico de 18 carbonos y 2 dobles enlaces adyacentes, los cuales son encontrados en los productos de rumiantes ya que son formados por la fermentación ruminal. Los estudios que evalúan el perfil de los AG de la leche de los bovinos han detectado la presencia de hasta 16 diferentes isómeros, entre ellos *trans-8,cis-10*; *trans-9,cis-11*; *trans-9,trans-11*; *cis-10,trans-12*; *trans-10,trans-12*; *cis-11,trans-13*; *trans-10,cis-12* y *cis-9,trans-11*, siendo el predominante de manera natural el *cis-9,trans-11* llamado también ácido ruménico (Tanaka, 2005; Bauman y Lock, 2006). El CLA *trans-10,cis-12* ha resultado ser el responsable de la reducción de la grasa de leche del ganado vacuno presentando un potente efecto inhibitor de la síntesis de lípidos en el tejido mamario (Chouinard et al., 1999; Baumgard et al., 2001; Peterson et al., 2004; Harvatine et al., 2009) sin afectar otros componentes de la leche como, la lactosa, la proteína y la producción diaria (Bernal et al., 2003; Han et al., 2012).

El rumen tiene la capacidad de modificar a los AG de cadena larga por la presencia de la microbiota ruminal, en este sentido, se ha observado que puede saturar, isomerizar e introducir dobles enlaces, formando una amplia variedad de AG, entre ellos al ácido vaccénico C18:1 *trans-11*, el cual, puede ser conducido al tejido mamario para convertirse en CLA *cis-9,trans-11* por la enzima $\Delta 9$ desaturasa (Griinari y Bauman, 1999).

Los isómeros de CLA son formados en sitios en donde se encuentran bacterias, por ello están relacionados a compartimentos de fermentación como lo es el rumen (Griinari y Bauman, 1999) y al intestino grueso en el caso de los monogástricos (Wallace et al., 2007). La aparición de los isómeros de CLA depende de los géneros bacterianos presentes en el sitio donde son formados, dependencia que adquiere diferentes variantes en la formación de intermediarios del CLA en los monogástricos; tal es el caso de los conejos y su actividad cecal, sin embargo el perfil de los AG del ciego (o del cecotrofo como producto del ciego) ha sido poco evaluado y en la coneja lactante es desconocido, esto en relación a los AG de cadena mediana y larga, ya que los AG de cadena corta también llamados ácidos grasos volátiles (AGV) ya han sido evaluados *in vivo* e *in vitro* (Padilha et al., 1995; Piattoni et al., 1997; Amici et al., 1998; Lleonart, 1999; Xiccato, et al., 2003; Rodríguez et al., 2005; Kimse et al., 2009; Papadomichelakis et al., 2010).

El perfil de los ácidos grasos (AG) del ciego de conejos en engorda ha sido publicado por Papadomichelakis et al. (2010) y por Leiber et al. (2008) pudiéndose esperar un perfil similar en la coneja lactante. El perfil AG del contenido cecal mostrado por Leiber et al. (2008) muestra AG saturados de 12-24 carbonos, AG mono-insaturados de 15-24 carbonos, entre los mono-insaturados varios isómeros de 18:1 como el ácido vaccénico 18:1 *trans*-11, también identificado por Papadomichelakis et al. (2010), AG poli-insaturados de 18-22 carbonos y el isómero de CLA *cis*-9,*trans*-11.

Con respecto al perfil de leche de la coneja o del tejido mamario, se han realizado varios estudios (Glass et al, 1967; Cowie, 1969; Hall, 1970; Carey y Dils, 1972, Strong y Dils, 1972a; Strong y Dils, 1972b; Mellenberger y Bauman, 1974) habiéndose recopilado los análisis de los AG de la leche de coneja y presentados por Maertens et al. (2006). Los análisis publicados muestran de manera general el contenido de AG de la leche. Recientemente, se determinó el perfil de los AG del coágulo lácteo (extraído del estómago de gazapos después de ser amamantados, representando a la leche de la coneja) para evaluar el efecto de la suplementación de diferentes dosis de CLA (Cuadro 1) (Betancourt, 2013) , identificándose por vez

primera a los isómeros de CLA *cis-9,trans-11* y *trans-10,cis-12* en muestras de madres que no habían recibido suplementación de CLA, sugiriéndose que, posiblemente éste provenía del ácido vaccénico 18:1 *trans-11* procedente de la fermentación cecal, el cual al ser ingerido a través de la cecotrofia pudiera haber llegado al tejido mamario para ser convertido por la enzima Δ -9 desaturasa en CLA *cis-9,trans-11* de manera similar a como ocurre en animales rumiantes, en donde la presencia del isómero de CLA *trans-10,cis-12* ha sido relacionada a la fermentación ruminal (Griinari y Bauman, 1999) habiéndose propuesto que el 18:1 *trans-10* pudiera involucrar a una isomerasa específica en las bacterias ruminales, las cuales usan como sustrato ácido linoleico, formando el isómero CLA *trans-10, cis-12* y después produciendo 18:1 *trans-10* por biohidrogenación parcial (Griinari y Bauman, 1999). La presencia de este último isómero de CLA en el coágulo de leche de los gazapos pudiera sugerir que fue transferido al tejido mamario a través de la cecotrofia.

El CLA *trans-10,cis-12* también ha sido uno de los isómeros más empleados para modular el metabolismo de los lípidos en los rumiantes, aprovechando sus cualidades antilipogénicas frente a situaciones específicas relacionadas a la modulación de lípidos y de energía.

Cuadro 1. Porcentaje de modificación de AG del coágulo de leche de conejas, suplementadas con diferentes niveles de CLA (adaptado de Betancourt, 2013).

Ácido graso	Nivel de CLA, mg/kg peso metabólico				% Modificación de ácidos grasos ²
	0	155	310	620	
Totales	38.44	39.37	40.34	40.92	4.6
8:0 - 15:0	23.30	26.59	26.66	22.29	2.6
16:0	18.0 ^a	15.80 ^b	14.88 ^b	15.16 ^b	6.5
16:1	1.4	1.2	1.2	0.2	3.1
18:1 <i>cis</i> -9	20.99 ^a	19.63 ^b	18.86 ^b	19.54 ^b	4.0
20:0	0.12 ^h	0.12 ^h	0.13 ^h	0.15 ^g	0.04
20:2	0.09 ^e	0.06 ^f	0.05 ^f	0.05 ^f	0.1
CLA	0.28 ^l	1.85 ^k	3.25 ^j	6.43 ⁱ	8.9
22:5	0.05 ^a	0.02 ^b	0.01 ^b	0.01 ^b	0.9

¹Los valores representan la media mínima cuadrada \pm error estándar.

²Porcentaje relativo al grupo control.

Valores con distinta literal presentaron diferencias: ^{ab}(P<0.03), ^{cd}(P<0.02), ^{ef}(P<0.01), ^{gh}(P<0.0005), ^{ijkl}(P<0.0001).

También el efecto del *trans*-10,*cis*-12 ha sido previamente evaluado en la coneja lactante (Betancourt 2013), sin embargo, el efecto antilipogénico del isómero no pudo ser observado sobre el porcentaje de grasa, pero sí sobre algunos AG de cadena larga del perfil de la leche (Cuadro 1), debido probablemente porque la lactancia en las conejas es corta (4 a 5 semanas) (Maertens et al., 2006) mientras que en bovinos lecheros la lactancia es prolongada, la cual puede ser hasta de 305 días (Zobel et al., 2015), además de que también están involucrados otros factores como la comercialización de la leche, lo que implica presión en la producción lechera, mientras que la producción cunícola no implica presión para la producción por el consumo de subproductos.

2.4. La suplementación de grasas en las conejas lactantes.

En la producción animal existen factores que son fundamentales para mantener el estado fisiológico y las etapas productivas de los animales. En el caso de las conejas que son empleadas en la reproducción, ellas, son la base de la producción, por lo que cuidar la salud y el bienestar animal son los principales factores que deben de procurarse. La presente tesis consiste en evaluar el perfil de los AG del cecotrofo y de la leche de la coneja para identificar al precursor del CLA que aparece en su leche, además de conocer el efecto de la suplementación de CLA sobre el perfil de los AG de la leche. El objetivo del trabajo no fue la evaluación de la productividad de las conejas suplementadas o no con CLA con relación al número de gazapos, número de camadas o número de partos; sin embargo, la administración oral de grasas puede influenciar el bienestar físico y reproductivo de las conejas durante la gestación y lactancia. A continuación, se presentan algunas características sobresalientes de las conejas lactantes suplementadas con CLA.

La lactancia es un estado fisiológico que implica un alto requerimiento de energía, el cual está estrechamente relacionado a algunas variables como: alimentación, condición corporal, fecundidad y crecimiento fetal. Otros aspectos que pueden estar involucrados son, la selección de líneas genéticas enfocadas a la prolificidad resultando en líneas que producen camadas de 10 crías, dando como consecuencia un incremento importante en el requerimiento de energía de la coneja para la producción de leche (Maertens et al., 2006). La selección genética ha sido un aspecto importante para mejorar la producción cunícola en donde el incremento del tamaño de la camada intensifica el ritmo de reproducción como en los sistemas intensivos, en los cuales se traslapa la gestación con la lactación para lograr el incremento del número de animales, lo cual provoca que los requerimientos de nutrientes en la coneja se incrementen no solo para la lactación sino también para la reproducción. Entonces la composición química del alimento, así como su cantidad y el consumo, debe proporcionar la suficiente energía para la producción de leche, el crecimiento fetal y el mantenimiento (Fortun, 1997). Debe de considerarse que en el periparto las conejas reproductoras pueden

presentar déficit corporal de energía, debido a que tienen poca capacidad de ingestión de alimento, lo que no permite cubrir las necesidades nutritivas durante la lactancia (Xiccato et al., 2003).

La síntesis de leche es la actividad prioritaria en el caso de las hembras lactantes no gestantes y la producción de leche y el crecimiento fetal para las hembras lactantes gestantes (Cervera et al., 1993). La leche producida contiene componentes que se mantienen estables durante toda la lactancia, debido a que la madre produce leche a expensas de sus propias reservas corporales. Por lo que los lípidos y las proteínas corporales pueden ser movilizados para reducir el déficit nutricional en caso de que se presente (Xiccato et al., 1995). El balance energético negativo se enfatiza en hembras primíparas que no hayan alcanzado el peso o en el caso de animales que se encuentren a alta temperatura ambiente, lo cual no permite que ingieran la cantidad de alimentos requerida. La dieta debe de aportar la energía digestible necesaria para cualquier estado fisiológico, por ejemplo, en conejas lactantes y conejas gestantes lactantes se debe reducir el balance energético negativo que pudiera ocasionarse por una alimentación que contenga insuficiente energía para el estado fisiológico en cuestión.

La energía en el organismo de la coneja está dada por el alimento que contiene componentes que aportan sustratos para la formación de la energía. Además de que en el ciego se forman AG volátiles que pueden aportar energía adicional a los conejos en cualquier etapa de producción y estado fisiológico. Es importante el aporte energético de los AG volátiles formados en el ciego del conejo, debido a que proporcionan 8-12 kcal/kg de peso metabólico de energía (Van Soest, 1982). Además de que el ácido acético es el sustrato principal para la síntesis *de novo* en el tejido mamario (Mellenberger y Bauman, 1974).

Algunos AG insaturados deben ser aportados en la dieta porque en los tejidos animales no se encuentran presentes las enzimas para la síntesis. Por ejemplo, el ácido linoleico y linolénico son AG esenciales que requieren ser sintetizados a partir de una variedad de AG que son componentes estructurales de los lípidos. Los conejos requieren el 2.5% de lípidos en el alimento, para cubrir su

requerimiento, el cual lo obtienen fácilmente por la alimentación (Maertens, 1998) y los AG esenciales están incluidos en el alimento.

La inclusión de las grasas animales y aceites vegetales en la alimentación de los conejos ya ha sido realizada con el objeto de incrementar la energía digestible de la dieta, habiéndose observado que al incrementar el 1% del extracto etéreo, el contenido de energía digestible de la dieta se incrementa 250 joules (Maertens, 1998). Sin embargo, la digestibilidad de los lípidos depende del origen de la grasa; por ejemplo los aceites vegetales poli-insaturados y el ácido linoleico conjugado (CLA) son más digestibles que la grasa animal, probablemente debido a la estructura de la molécula del ácido graso, ya que las grasas animales se caracterizan por los enlaces saturados y los aceites vegetales por ser AG de cadena larga que incluyen dobles enlaces, existiendo una relación positiva entre el grado de insaturación de las grasas y su digestibilidad (McKee y McKee, 2003). Por lo tanto, la inclusión de grasa en la dieta conduciría al incremento en el extracto etéreo digestible. El CLA incrementaría la digestibilidad de las grasas aumentando por consecuencia el aporte de energía para cubrir la demanda energética que implica la síntesis de leche y crecimiento fetal en el caso de sistemas intensivos (Maertens, 1998).

Las evaluaciones del contenido cecal incluyen la inclusión de aceites para observar la influencia que tienen los AG sobre la fermentación cecal. Papadomichelakis et al. (2010) adicionaron aceite de soya (AG poliinsaturados) a dietas alta y baja en fibra digestible para observar el efecto del aceite de soya sobre la fermentación cecal. Es conocido que el efecto de los aceites sobre la fermentación microbiana en rumiantes puede modificar el perfil bacteriano, ya que puede alterar el medio fermentativo (Benchaar et al., 2008; Tekippe et al., 2013), sin embargo, en los conejos el ciego no sufre modificaciones sobre la fermentación.

La fermentación cecal produce AGV el ácido acético se produce en mayor proporción (70%), continuando el butírico (15%) y por último el propiónico (6%) (Gidenne, 1997). El proceso de síntesis de AGV puede ocurrir en el tracto digestivo de los mamíferos monogástricos al nivel del intestino grueso. Los ácidos

acético y butírico tienen una función adicional en la síntesis de lípidos de la leche de la coneja para la síntesis de AG *de novo* (Gidenne, 1997).

El peso corporal de la coneja puede ser un indicador de su estado de salud y bienestar, el cual debe tener la reserva corporal (energética) requerida para soportar la gestación y la lactancia. Se ha observado que las hembras que reciben una dieta adicionada con grasa presentan mejor peso corporal al momento del apareamiento, el peso incrementado de la hembra al momento de la monta natural no tiene un efecto significativo, además, se ha observado que el peso vivo no es útil como indicador de la movilización de tejido corporal o de variaciones en los tejidos (Xiccató et al., 1995).

También ha sido observado que las dietas con alta energía pueden acentuar la movilización de las reservas corporales durante la producción de leche. Además de que las conejas que reciben suplementación alta en grasa en la dieta tienen 60% más tejido adiposo que las conejas alimentadas con dietas de energía moderada (Fortun, 1997). Al evaluar CLA en la coneja lactante asumiendo que se está proporcionando un ácido graso que pueda modificar el peso de los animales, no ha resultado en la modificación del peso corporal de la coneja y hasta el momento en base a lo observado en los estudios realizados no se ha encontrado algún efecto sobre el peso vivo (Betancourt, 2013).

La inclusión de grasa de origen vegetal o animal en la dieta ha mostrado que las hembras producen 7-12% más leche que las hembras no suplementadas con grasa. De esta manera la grasa puede mejorar la utilización de la energía digestible para la producción (Fortun, 1997). También el peso de las crías se incrementa mostrándose un rápido crecimiento de las camadas cuando la producción de leche se aumenta (Lebas y Fortun, 1996). En las conejas lactantes empleando CLA no se presentaron diferencias en la producción diaria de leche durante el tiempo de la suplementación, tampoco en el peso de las camadas (Betancourt, 2013).

2.4.1. El CLA en la coneja lactante.

La coneja lactante ha sido un modelo experimental que ha sido empleado para conocer los aspectos reproductivos y su problemática en la producción es similar al de otras mamíferas lecheras, las cuales han sido seleccionadas para incrementar la producción, lo cual puede ocasionar problemas de salud e incluso la muerte, sobre todo durante el parto y la lactancia (Xiccato et al., 1995).

Por ello el CLA en la coneja lactante podría aportar su efecto modulador de la energía durante la lactancia al igual que en las vacas lecheras. Sin embargo, el CLA en la producción cunícola ha sido escasamente evaluado, lo cual también resulta en una oportunidad para conocer su efecto sobre el metabolismo y la producción animal.

En la producción de conejos las pocas evaluaciones de CLA se enfocan a la evaluación de los parámetros productivos, no considerando el efecto metabólico que pudiera tener en la coneja. Por ejemplo, en una investigación empleando una mezcla de AG poliinsaturados, eicosapentanoico, docosahexanoico, los isómeros CLA *cis-9-trans-11* y *trans-10, cis-12*, entre otros, en conejas gestantes y lactantes se pudo observar la modificación de la fertilidad en donde el número de gestaciones se incrementó 8.63%, aumentó la producción de gazapos (3.45/mes), se incrementó en 51% el número de gazapos paridos por coneja (o sea su prolificidad), así como la producción de leche (Roca, 2005).

Como se puede observar la inclusión de AG poliinsaturados en la dieta de las conejas tiene efectos en el incremento de la productividad de las reproductoras, derivado quizás por el incremento del aporte energético de los AG adicionados o probablemente porque estos AG pueden modular el balance de la energía de las conejas al igual que en la vaca lechera (Roca, 2005).

La inclusión de AG en la alimentación de la coneja lactante ha sido benéfico (Lebas y Fortun, 1996; Fortun, 1997) ya que, permite el mejoramiento de la salud de las conejas lactantes y en consecuencia puede incrementar la producción. Así mismo por su aportación de AG poli-insaturados benéficos implicaría que puede

ser empleado como una herramienta importante para mantener el bienestar de la coneja lactante durante su ciclo de producción.

III. HIPÓTESIS

Los AG presentes en el alimento y en los cecotrofos, así como la suplementación oral de CLA durante la lactancia, pueden alterar el perfil de los AG de la leche de la coneja

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar los perfiles de los AG de leche, cecotrofos y heces de conejas lactantes suplementadas o no con CLA.

4.2. Objetivos específicos

- Determinación del perfil de los AG de los cecotrofos y heces duras.
- Determinación del perfil de los AG de la leche.
- Identificar la relación entre el perfil de los AG de los cecotrofos y los de la leche.
- Comparar el perfil de los AG de la leche de animales suplementados o no con CLA.

V. METODOLOGÍA

El estudio se llevó a cabo en el Módulo Cunicola del Campus Amazcala, de la Universidad Autónoma de Querétaro, habiéndose aprobado todos los procedimientos experimentales por el Comité de Bioética de la Universidad. Se emplearon 18 conejas multíparas de la raza Nueva Zelanda blanco, alojadas en jaulas individuales con comedero y bebedero automático. Fueron distribuidas aleatoriamente en dos grupos, control (administración oral de 1ml de agua) y un tratamiento con CLA (administración oral a razón de 310 mg/kg de peso metabólico PM). El CLA empleado contenía dos isómeros de CLA C18:2 *cis*-9,*trans*-11 y C18:2 *trans*-10,*cis*-12 (50:50, Tonalin FFA ©BASF). Los animales

experimentales fueron alimentados *ad libitum* con una dieta comercial para conejos reproductores Malta Cleyton®.

Al parto se estandarizaron las camadas a 6 crías por coneja. El periodo experimental fue durante los primeros 12 días del posparto, administrándose el CLA por vía oral los días 6 al 12. Durante los 12 días de duración del experimento se registró el peso corporal, consumo de alimento y producción de leche de las conejas, así como el cambio de peso corporal de las camadas. La producción de leche fue estimada a través del cambio de peso de las camadas antes y después de ser amamantadas, cerrándose la puerta de los nidos a las 12 am y abriéndose a las 8 am para que las conejas amantaran a sus camadas. Muestras de leche fresca fueron extraídas a través de ordeña manual usando Oxitocina (0.05 ml/kg peso vivo) para facilitar la eyección de la leche. Las ordeñas se realizaron durante los días 5^o (día previo a la administración de CLA), 6^o, 8^o, 10^o y 12^o días del posparto (durante la administración de CLA); se obtuvieron 10 ml de leche por coneja por día de colecta.

Simultáneamente fueron colectadas muestras de heces blandas (cecotrofos) y heces duras durante los días 7^o, 9^o, 11^o del posparto, para la colecta de heces y con objeto de evitar la cecotrofia, se emplearon collares isabelinos de 9 pulgadas colocados en el cuello de las conejas y mallas metálicas de 6 mm en el piso de las jaulas. Los collares y las mallas fueron colocados a las 12 am y retirados a las 8 am (Figura 7).

Las muestras de leche, cecotrofos y heces duras fueron liofilizadas en un equipo Freezy dry (Labconco®) durante 72 h. Las muestras de leche liofilizadas fueron rehidratadas de acuerdo con el 29.70% de materia seca y 70.30% de humedad para la evaluación de su composición química.



Figura 7. Las conejas experimentales durante la colocación del collar isabelino para la colecta de las heces.

Para conocer la relación entre el perfil de los AG de las heces y el de la leche, solamente se utilizaron las muestras obtenidas de las conejas del grupo control que no recibieron la suplementación del CLA. Para conocer el efecto de la suplementación oral de CLA sobre el perfil de la leche se emplearon las muestras obtenidas de todas las conejas.

La extracción de los AG de la leche, empleando hexano y sulfato de sodio, así como la metilación de estos se llevó a cabo siguiendo los procedimientos descritos por Christie (1982), con modificaciones de Chouinard et al. (1999). En las muestras de heces y alimento se empleó un procedimiento de dos pasos descrito por Kramer et al (1997). Los AG metil esterificados fueron cuantificados usando cromatografía de gases en un equipo (GC Agilent 6890A con detector de flama de ionización FID) equipado con una columna capilar HP 88 fusión-silica (100m x 0.25 mm i.d. con 0.2 μm de grosor de película; Varian Inc., Walnut Creek, CA). El programa de cromatografía de acuerdo con el reportado por Baumgard et al. (2001). Estándares externos 13:0 y 19:0 fueron incluidos para las muestras de leche y 13:0 y 19:0 para las muestras de heces. Los picos fueron identificados usando estándares metil-esterificados: FAME Mix C4-C24, 18919-1AMP, Supelco.

Inc.; GLC 68D y 780, AG puros *trans*-10,*cis*-12 and *cis*-9,*trans*-11 CLA NuCheck Prep Inc.; BAME mix 47080-U, estándar de ácido vaccénico C_{18:1} *trans*-11 V1131, Sigma-Aldrich, Inc. Para la confirmación de los isómeros de CLA fue utilizado helio como gas acarreador y las condiciones para realizar CACI-MS y MS/ms se realizaron de acuerdo con lo reportado por (Michaud et al., 2005; Van Pelt and Brenna, 1999).

5.2. Análisis estadístico.

Análisis de varianza del perfil de los AG de la leche y heces fue conducido de acuerdo con un diseño completamente aleatorizado, usando los procedimientos PROC GLM, LSMEANS y PROC CORR de SAS (2001).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 se presenta la composición química y perfil de AG del alimento consumido por los animales, conteniendo 1.6% de extracto etéreo y con un total de AG de 1.43% y más del 96% de AG con más de 16 carbonos.

Cuadro 2. La composición química y el perfil de los AG del alimento para conejas lactantes.

Analito	%
Materia seca ¹	88
Proteína Cruda ¹	15.2
Fibra detergente neutra ²	40.6
Fibra detergente ácida ²	10.2
Extracto etéreo ¹	1.9
Energía bruta, cal/kg	4300
<u>Perfil de los AG</u>	
Total AG	1.43
Ácidos grasos, % total de AG	
C _{4:0}	0.65
C _{6:0}	2.53
C _{8:0}	0.23
C _{12:0}	0.28
C _{16:0}	22.72
C _{16:1}	0.83
C _{17:0}	0.80
C _{17:1}	2.76
C _{18:0}	2.95
C _{18:1}	32.36
C _{18:2} ω-6	22.42
C _{18:3} ω-6	0.46
C _{20:1}	1.68

C _{18:3} ω-3	1.32
C _{20:2}	3.74
C _{20:3} ω-6	0.44
C _{24:1}	3.77

¹ AOAC, 1990.

² Robertson y Van Soest, 1981.

El alimento para conejas reproductoras se caracterizó por contener un gran porcentaje de AG de cadena larga (96.45%) (Cuadro 2), en donde sobresalieron los AG saturados (C_{16:0}, 22.36%), mono-insaturados (C_{18:1}, 32.36%) y poli-insaturados (C_{18:2} ω-6, 22.42%).

El alimento es la fuente de nutrientes durante la lactancia, aunque, la movilización de reservas corporales también puede ocurrir dependiendo de la edad de las conejas al parto y del sistema de producción, ya que, los animales pueden presentar balance energético negativo (Maertens, 1998).

Las variables productivas y la composición química proximal de la leche de las conejas se presentan en el Cuadro 3 no habiéndose encontrado diferencias estadísticas debidas a la suplementación oral del CLA.

Las mismas variables habían sido objeto de estudio en evaluaciones usando grasas de origen animal y vegetal en sistemas intensivos, en donde, se había visto que las grasas añadidas en la dieta pueden mejorar la palatabilidad y el equilibrio de los nutrientes (Cheeky, 1987; Xicatto, 1996 en Maertens 1998), además de haberse verificado un efecto positivo de las grasas sobre la estimulación de la producción de leche y el peso de las camadas (Fernández-Carmona et al., 1996 en Maertens, 1998).

Cuadro 3. Parámetros productivos y composición química de la leche de conejas suplementadas con CLA durante los primeros 12 días de lactancia.

Parámetro ¹	Tratamiento		EE	P
	Control	CLA		
Número de conejas	9	9		
Peso corporal promedio de las conejas ² , kg	4.29	4.24	0.11	0.77
Producción de leche, ml/d	128.33	136.37	7.73	0.47
Consumo de materia seca, g/d	197.84	222.68	13.14	0.20
Peso corporal de las camadas, g/d	599.51	804.6	68.14	0.05
<u>Composición química de la leche %</u>				
Proteína cruda	9.10	8.47	1.01	0.65
Grasa	8.31	10.86	1.43	0.21
Lactosa	3.67	3.55	0.34	0.81
Sólidos totales	13.66	13.00	1.37	0.73

¹Los valores representan la media mínima cuadrada y el error estándar (EE).

²Las conejas fueron pesadas diariamente antes de la ordeña manual.

No obstante, el no haber observado diferencias estadísticas en las variables de producción al incluir CLA de manera oral en las conejas durante el postparto, se puede apreciar que no hubo pérdida de peso de las madres y tampoco reducción de la producción de leche, además de que las camadas de las conejas en tratamiento tendieron a ser más pesadas que las camadas del grupo control (Cuadro 3).

El perfil de los AG grasos de la fracción grasa de la leche de las conejas lactantes del grupo control, se muestra en el Cuadro 4. El porcentaje total de los AG presentes en la leche fue cuantificado, así como cada AG detectado en el

perfil. La leche contiene AG de diferente longitud de carbonos comenzando con 4 hasta 24 carbonos; pares (C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{12:0}, etc.) e impares (C_{11:0}, C_{15:0}, C_{17:0}, C_{21:0}), ramificados (iso y anteiso, 0.60±0.05); saturados en su mayoría (56.24±1.48), mono-insaturados (24.45±1.08) y, poli-insaturados con dobles y triples ligaduras (17.39±1.10). En la leche también resaltan algunos AG por su alto contenido dentro del perfil, entre ellos, C_{8:0} (10.65±1.62), C_{10:0} (14.83±1.41), C_{16:0} (21.05±1.75) C_{18:1} t-15 (20.14±1.00), C_{18:2} ω-6 (16.24±1.03).

Cuadro 4. Perfil de los ácidos grasos de la leche de conejas lactantes durante los primeros 12 días de la lactancia.

	Media	EE
AG totales, %	42.52	1.78
Ácidos grasos, % total de AG		
C _{4:0}	0.004	0.0005
C _{6:0}	0.046	0.014
C _{8:0}	10.65	1.62
C _{10:0}	14.83	1.41
C _{11:0}	0.009	0.002
C _{12:0}	2.46	0.24
C _{14:0}	1.08	1.21
C _{15:0}	0.39	0.02
C _{16:0}	21.05	1.75
C _{17:0}	0.35	0.04
C _{18:0}	3.99	0.26
C _{20:0}	0.09	0.007
C _{21:0}	0.01	0.004
C _{22:0}	0.06	0.004
C _{24:0}	0.04	0.007
Total AG saturados	56.24	1.48
iso C _{14:0}	0.011	0.004
iso C _{15:0}	0.05	0.003

anteiso C _{15:0}	0.06	0.007
iso C _{16:0}	0.13	0.01
iso C _{17:0}	0.30	0.02
anteiso C _{17:0}	0.04	0.005
Total AG ramificados	0.60	0.05
C _{10:1}	0.0007	0.004
C _{14:1}	0.20	0.035
C _{16:1}	2.49	0.34
C _{17:1}	0.20	0.009
C _{18:1 t-6/8}	0.05	0.004
C _{18:1 t-9}	0.04	0.003
C _{18:1 t-10}	0.04	0.01
C _{18:1 t-11}	0.12	0.01
C _{18:1 t-12}	0.05	0.004
C _{18:1 t-15}	20.14	1.00
C _{18:1 c-12}	0.06	0.01
C _{18:1 t-16}	0.03	0.008
C _{20:1}	0.87	0.06
C _{24:1}	0.14	0.01
Total AG mono-insaturados	24.45	1.08
C _{18:2 ω-6}	16.24	1.03
C _{18:2 cis-9, trans-11}	0.11	0.01
C _{18:2 trans-10, cis-12}	0.07	0.01
C _{18:3 ω-3}	0.24	0.01
C _{18:3 ω-6}	0.12	0.03
C _{20:2}	0.18	0.02
C _{20:3 ω-3}	0.31	0.03
C _{20:3 ω-6}	0.07	0.01
C _{20:4 ω-6}	0.01	0.005
C _{22:2}	0.02	0.008

C _{22:4} ω-6	0.14	0.01
DHA (C _{22:6} ω-3)	0.003	0.002
Total AG poli-insaturados	17.39	1.10
Desconocidos	1.17	0.15

Las publicaciones de los AG de la leche en diferentes especies, incluidos conejos habían sido realizadas en su mayoría durante los años 1960's y 1970's (Cowie, 1969; Glass et al., 1967; Hall, 1970; Carey y Dils, 1972; Strong y Dils, 1972a; Strong y Dils, 1972b; Strong et al., 1972; Mellenberger y Bauman, 1974) y no menos importantes las escasas publicaciones recientes que evaluaron el perfil de los AG y algunos aspectos productivos de los conejos domésticos (Maertens et al., 2006; Gómez-Ramos et al., 2011).

El perfil de los AG de las conejas evaluadas con CLA se presenta en el Cuadro 5. Diferencias presentadas con el tratamiento fueron encontradas en los AG, C_{17:1} *cis*-9 (P=0.007), C_{18:1} *trans*-16 (P=0.03), C_{18:2} ω-6 (P=0.009), C_{18:2} *cis*-9, *trans*-11 (P=0.0003), C_{18:2} *trans*-10, *cis*-12 (P=0.0002), C_{20:1} *cis*-9 (P=0.04), C_{20:3} ω-3 (P=0.006), C_{20:3} ω-6 (P=0.05), C_{21:0} (P=0.05), C_{22:4} ω-6 (P=0.01) y el índice de desaturación para los AG C_{18:2} *cis*-9, *trans*-11/C_{18:1} *trans*-11. AG con más de 16 carbonos son los principales constituyentes de la grasa de la leche de la coneja durante la lactancia (Cuadro 5). Los siguientes AG se mostraron reducidos en los animales que recibieron CLA, C_{17:1} *cis*-9, C_{18:1} *trans*-16, C_{18:2} ω-6, C_{20:1} *cis*-9, C_{20:3} ω-3, C_{20:3} ω-6, C_{22:4} ω-6. Mientras, pocos AG aparecieron incrementados, entre ellos, los isómeros de CLA C_{18:2} *cis*-9, *trans*-11, C_{18:2} *trans*-10, *cis*-12, el C_{21:0} y el índice de desaturación C_{18:2} *cis*-9, *trans*-11/C_{18:1} *trans*-11. Enzimas desaturasas podrían estar presentes en el ciego o en el tejido mamario, siendo las responsables del uso de AG saturados, mono-insaturados o poli-insaturados empleados como sustratos para introducir dobles enlaces en uno o diferentes sitios dentro de la cadena carbonada. Eventualmente, el CLA estaría influenciando la actividad de esas enzimas durante la metabolización de los AG durante la fermentación cecal o en el tejido mamario por la reducción o el incremento de los AG mono y poli-insaturados. Pese a los cambios observados en los AG con

diferente número de insaturaciones en la leche (Cuadro 5) y en el cecotrofo (Cuadro 6), las enzimas desaturasas aún no han sido evaluadas.

Cuadro 5. Perfil de los ácidos grasos de la grasa de leche de las conejas suplementadas con isómeros de CLA *cis*-9,*trans*-11 y *trans*-10,*cis*-12¹.

	Tratamiento			P
	Control	CLA	EE	
AG totales, %	42.14	41.96	1.59	0.93
AG, % del total de los AG				
C _{4:0}	0.001	0.002	0.001	0.84
C _{6:0}	0.05	0.04	0.01	0.70
C _{8:0}	10.94	11.42	1.57	0.82
C _{10:0}	14.99	14.56	1.17	0.79
C _{10:1 cis-9}	0.006	0.004	0.004	0.73
C _{11:0}	0.01	0.007	0.003	0.40
C _{12:0}	2.46	2.18	0.19	0.30
C _{i14:0}	0.01	0.01	0.005	0.59
C _{14:0}	2.26	2.21	0.20	0.85
C _{14:1 cis-9}	0.19	0.12	0.03	0.14
C _{i15:0}	0.05	0.05	0.006	0.31
C _{a15:0}	0.06	0.07	0.007	0.35
C _{15:0}	0.40	0.35	0.02	0.09
C _{i16:0}	0.17	0.14	0.03	0.65
C _{16:0}	21.63	19.62	1.45	0.33
C _{16:1 cis-9}	2.44	1.61	0.29	0.06
C _{i17:0}	0.27	0.35	0.03	0.12
C _{a17:0}	0.07	0.05	0.02	0.45
C _{17:0}	0.37	0.39	0.03	0.75
C _{17:1 cis-9}	0.20	0.13	0.01	0.007
C _{18:0}	4.14	4.28	0.23	0.67

C _{18:1} <i>trans</i> -6/8	0.05	0.05	0.006	0.57
C _{18:1} <i>trans</i> -9	0.04	0.04	0.005	0.76
C _{18:1} <i>trans</i> -10	0.03	0.03	0.01	0.89
C _{18:1} <i>trans</i> -11	0.11	0.12	0.02	0.68
C _{18:1} <i>trans</i> -12	0.05	0.04	0.007	0.55
C _{18:1} <i>trans</i> -16	0.03	0.004	0.007	0.03
C _{18:1} <i>cis</i> -9	18.12	23.46	1.99	0.07
C _{18:1} <i>cis</i> -12	0.05	0.05	0.009	0.99
C _{18:2} ω -6	16.61	12.65	0.98	0.009
C _{18:2} <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	0.21	1.02	0.13	0.0003
C _{18:2} <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0.20	1.20	0.15	0.0002
C _{18:3} ω -3	0.23	0.36	0.08	0.26
C _{18:3} ω -6	0.14	0.08	0.03	0.15
C _{20:0}	0.09	0.15	0.03	0.27
C _{20:1} <i>cis</i> -9	0.88	0.66	0.07	0.04
C _{20:2} ω -6	0.19	0.18	0.01	0.80
C _{20:3} ω -3	0.33	0.20	0.03	0.006
C _{20:3} ω -6	0.08	0.04	0.01	0.05
C _{20:4} ω -6	0.01	0.04	0.03	0.46
C _{21:0}	0.02	0.05	0.01	0.04
C _{22:0}	0.06	0.06	0.01	0.92
C _{22:2} ω -6	0.02	0.01	0.008	0.66
	0.15	0.08	0.01	0.01
C _{22:6} ω -3	0.003	0.009	0.006	0.51
C _{24:0}	0.04	0.03	0.008	0.57
C _{24:1} <i>cis</i> -15	0.15	0.13	0.02	0.46
Otros	1.30	1.50	0.15	0.37
Sumatoria				
<16 carbons	31.46	31.05	2.60	0.91

16 carbons	24.24	21.38	1.60	0.21
>16 carbons	44.30	47.57	1.82	0.21
Índice de desaturación				
C _{14:1} /C _{14:0}	0.09	0.06	0.02	0.25
C _{16:1} /C _{16:0}	0.11	0.08	0.01	0.11
C _{18:1} /C _{18:0}	4.76	5.55	0.64	0.38
C _{18:2} <i>cis-9,trans-11</i> /C _{18:1} <i>trans-11</i>	0.87	7.88	1.56	0.0004

¹ Los valores representan la media mínima cuadrada y el error estándar (EE) .

En la evaluación del perfil de AG de la leche de la coneja lactante administrándoles oralmente CLA fue empleado solo el nivel de 155 mg/kg de peso metabólico, además de que fue usada leche ordeñada manualmente.

En las evaluaciones empleando CLA en rumiantes productores de leche fue observada la reducción de la grasa de la leche (Chouinard et al., 1999). Sin embargo, la grasa de la leche de la coneja lactante se mantiene en el grupo con tratamiento, a pesar de la administración oral del CLA (Cuadro 3); el mismo efecto había sido observado durante el primer experimento empleando coágulo lácteo (Cuadro 1). El perfil de los AG de la leche de conejas durante la administración oral de CLA ya había sido evaluado usando coagulo lácteo durante el estudio previo, en donde las conejas experimentales recibieron 3 diferentes niveles crecientes de CLA. Los primeros resultados se encuentran resumidos en el Cuadro 1. Como ya se ha mencionado, el CLA fue encontrado dentro del perfil de los AG, pero no se había detectado el AG 18:1 *trans-11*. En esta ocasión también en la leche fueron identificados los isómeros de CLA, así como el ácido vaccénico (Cuadro 4).

A diferencia del presente estudio, una evaluación de los AG presentado por Fraga et al., 1989 en Maertens, 1998; en donde se incluyó manteca de cerdo en la dieta de las conejas, la leche también presentó a los AG de 8 y 10 carbonos pero

con un total de 40% y aunque, el total de AG de 16 a 18 carbonos incluyendo saturados e insaturados en diferentes formas alcanzaron un 60%, los AG de cadena mediana fueron considerados los AG más importantes, posiblemente porque la manteca de cerdo se caracterizó por un alto contenido de C18:1 (Maertens, 1998). Sin embargo, de la misma forma, el alimento ofrecido durante el estudio constaba de un alto contenido de AG de cadena larga, no obstante, durante la investigación, fue indispensable contemplar la transformación de los AG saturados e insaturados (diferente número de insaturación) durante el proceso de digestión del alimento, por las cualidades que presenta el sistema digestivo de los conejos.

Por otro lado, la administración oral de CLA puede influir sobre el perfil de los AG de la leche, debido a la transferencia de los isómeros de CLA ingeridos hacia el tejido mamario y consecuentemente a la leche. Durante la evaluación del coágulo lácteo se esperaba que los AG de cadena corta sintetizados por la vía *de novo* y el porcentaje de grasa se mostraran reducidos, de manera similar a como había ocurrido en vacas lecheras por la influencia del CLA sobre el tejido mamario de rumiantes, en la vía principal de síntesis de los AG en el tejido mamario (Harvatine et al., 2009). Sin embargo, con el análisis de la leche de coneja lactante, se confirma que el efecto principal del CLA sobre los AG ocurre principalmente sobre los AG de cadena larga.

En este último estudio la actividad de desaturación usando el índice de desaturación (Cuadro 5) fue evaluada observando la transformación de AG saturados en AG insaturados y poli-insaturados; presentándose diferencias en la actividad de desaturación de la enzima la cual, fue mayor en el grupo tratado con CLA. En el primer estudio del perfil de AG de coagulo lácteo no fue evaluado el índice de desaturación porque no se había identificado en el perfil el AG C18:1 *trans*-11 y, la misma enzima y otras enzimas involucradas con la síntesis de lípidos solo han sido evaluadas en estudios de estandarización de tejido mamario y no en estudios bien establecidos para la observación de su actividad, lo que sería indispensable para conocer si está o no realmente influenciada por el CLA.

Los AG presentes tanto en el cecotrofo como en la leche de las conejas del grupo control que no recibieron la suplementación oral de CLA, así como su correlación, se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Media mínima cuadrada de los ácidos grasos presentes en el cecotrofo y en la leche de conejas durante los primeros 12 días de la lactancia, y su coeficiente de correlación.

Analito	Cecotrofo	Leche	EE	R ²	P
AG Totales, %	1.20	42.52	1.25	0.98	<0.0001
AG, % total de AG					
C _{4:0}	8.83	0.004	0.96	-0.91	<0.0001
C _{6:0}	0.87	0.05	0.17	-0.65	0.004
C _{12:0}	0.22	2.46	0.17	0.91	<0.0001
C _{14:0}	1.07	2.23	0.17	0.72	0.0008
C _{15:0}	1.94	0.39	0.07	-0.95	<0.0001
C _{16:0}	20.43	21.05	1.39	0.07	0.76
C _{17:0}	0.57	0.35	0.05	-0.60	0.007
C _{18:0}	14.73	3.99	2.48	-0.60	0.007
C _{20:0}	0.74	0.09	0.02	-0.97	<0.0001
C _{21:0}	0.08	0.02	0.008	-0.86	0.0003
C _{22:0}	0.75	0.06	0.04	-0.95	<0.0001
C _{24:0}	1.09	0.04	0.07	-0.93	<0.0001
Total AG saturados	51.35	30.74	3.15		0.0003
iso C _{14:0}	0.46	0.02	0.03	-0.95	<0.0001
iso C _{15:0}	1.10	0.05	0.05	-0.96	<0.0001
anteiso C _{15:0}	1.70	0.06	0.06	-0.97	<0.0001
iso C _{16:0}	2.11	0.13	0.11	-0.94	<0.0001
Total AG ramificados	4.61	0.25	0.52		<0.0001
C _{14:1}	1.10	0.20	0.07	-0.91	<0.0001
C _{16:1}	0.52	2.48	0.24	0.82	<0.0001
C _{17:1}	3.60	0.19	0.21	-0.94	<0.0001

C _{18:1} t-6/8	0.27	0.05	0.02	-0.81	0.0002
C _{18:1} t-9	0.21	0.04	0.03	-0.75	0.0007
C _{18:1} t-10	0.21	0.05	0.02	-0.87	0.0002
C _{18:1} t-11	2.94	0.12	0.26	-0.88	<0.0001
C _{18:1} t-12	0.38	0.05	0.02	-0.94	<0.0001
C _{18:1} c-12	0.46	0.06	0.06	-0.75	0.001
C _{20:1}	0.73	0.87	0.06	0.39	0.10
C _{24:1} n-9	1.64	0.14	0.22	-0.77	0.0002
Total AG mono-insaturados	10.14	4.28	0.80		<0.0001
C _{18:2} ω-6	12.01	16.24	0.77	0.69	0.26
C _{18:2} cis-9,trans-11	0.46	0.11	0.07	-0.67	0.002
C _{18:2} trans-10,cis-12	0.10	0.07	0.05	-0.10	0.69
C _{18:3} ω-3	0.46	0.23	0.03	-0.82	<0.0001
C _{18:3} ω-6	0.23	0.12	0.02	-0.63	<0.0001
C _{20:2} ω-6	0.16	0.18	0.02	-0.11	0.67
C _{20:3} ω-6	0.68	0.075	0.09	-0.74	0.002
Total AG poli-insaturados	13.70	17.03	0.85		0.013
Desconocidos	11.28	1.16	0.87	-0.89	<0.0001

¹Solo los AG presentes tanto en la leche como en el cecotrofo fueron correlacionados.

La mayor parte de los AG evaluados presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$). Algunas correlaciones fueron > 0.90 positivas y altamente significativas (< 0.0001) en, AG totales, C_{12:0} y C_{14:0}. Además, se presentaron en su mayoría correlaciones > 0.90 negativas y también altamente significativas (< 0.0001) en, C_{4:0}, C_{15:0}, C_{20:0}, C_{22:0}, C_{24:0}, iso C_{14:0}, iso C_{15:0}, anteiso C_{15:0}, iso C_{16:0}, C_{14:1}, C_{17:1} y C_{18:1} t-12. Es importante mencionar al AG C_{18:1} *trans*-11 el cual, estuvo presente tanto en el cecotrofo como en la leche, tuvo una correlación de -0.88 y $P < 0.0001$. Aunque en el ciego de la coneja lactante se desconoce lo que ocurre con los AG de cadena larga, el presente estudio propone que, de manera similar al rumen, el

ciego puede formar al ácido vaccénico 18:1 *trans*-11 (Cuadro 6), el cual puede actuar como intermediario para la formación de CLA *cis*-9,*trans*-11 en el tejido mamario de la coneja lactante. Cabe mencionarse, que en los conejos la disponibilidad del ácido vaccénico formado a nivel cecal que pudiera usar el tejido mamario, dependería de la cecotrofia, proceso que permitiría que el ácido vaccénico C18:1 *trans*-11 estuviera disponible en el intestino delgado para ser absorbido y conducido hacia el tejido mamario. Sin embargo, no hubo correlación entre el ácido vaccénico del cecotrofo con el ácido ruménico encontrado en la leche.

Los perfiles de los AG de cecotrofos y heces duras fueron evaluados (Cuadro 7). Entre ellos hubo diferencias significativas en algunos AG presentándose con mayor porcentaje en el cecotrofo los AG, C_{4:0}, C_{15:0} y total de AG saturados; iso C_{14:0}, iso C_{15:0}, anteiso C_{15:0}, iso C_{16:0} y el total de AG ramificados; C_{16:0}, C_{17:1}, C_{18:1 t-12} y C_{24:1}, mientras que en las heces los AG, C_{16:1}, C_{18:3 ω-6}, C_{21:0}, C_{22:1} y C_{23:0} fueron mayores. La microbiota intestinal juega un papel importante en los conejos, porque es la responsable de la transformación de los AG durante su paso por el tracto gastrointestinal, en donde se puede observar que los AG saturados en los cecotrofos fueron predominantes. En un estudio realizado en engorda de conejos fue observado el incremento de los AG saturados de la grasa corporal como resultado de la biohidrogenación cecal (Leiber et al., 2008). Asimismo, la presencia de AG ramificados es el resultado de la actividad de la microbiota en rumiantes (Gómez y de la Fuente 2021). Como se mencionó anteriormente, la microbiota cecal participa de manera importante en la formación de AG ramificados los cuales, son característicos de los AG en los cecotrofos y también se encuentran en la leche de la coneja lactante (Cuadro 4).

Cuadro 7. Perfil de los ácidos grasos de los cecotrofos y las heces duras de las conejas durante los primeros 12 días de lactancia¹.

	Cecotrofo	Heces	EE	<i>P</i>
AG Totales, %	1.20	1.18	0.09	0.93
Ácido graso, % total de AG				

C _{4:0}	8.83	0.90	0.54	<0.0001
C _{6:0}	0.87	0.43	0.18	0.11
C _{12:0}	0.22	0.03	0.09	0.09
C _{13:0}	0.35	0.11	0.17	0.34
C _{14:0}	1.08	1.21	0.17	0.57
C _{15:0}	1.94	0.55	0.09	<0.0001
C _{16:0}	20.43	15.36	1.58	0.03
C _{17:0}	0.57	0.41	0.061	0.08
C _{18:0}	14.73	10.13	2.89	0.27
C _{20:0}	0.74	1.38	0.43	0.31
C _{21:0}	0.08	0.31	0.02	0.0003
C _{22:0}	0.75	0.91	0.12	0.36
C _{23:0}	0.30	0.55	0.08	0.03
C _{24:0}	1.09	1.35	0.18	0.33
Total AG saturados	51.90	33.40	3.81	0.003
iso C _{14:0}	0.46	0.24	0.03	0.0005
iso C _{15:0}	1.09	0.45	0.08	<0.0001
anteiso C _{15:0}	1.70	0.68	0.10	<0.0001
iso C _{16:0}	2.11	1.00	0.17	0.0008
Total AG ramificados	5.38	2.39	0.23	<0.0001
C _{14:1} c-9	1.10	0.60	0.12	0.01
C _{16:1}	0	1.51	0.04	<0.0001
C _{17:1}	3.60	1.07	0.25	<0.0001
C _{18:1} t-4	0.04	0.08	0.01	0.07
C _{18:1} t-5	0.004	0.007	0.004	0.53
C _{18:1} t-6/8	0.26	0.28	0.06	0.89
C _{18:1} t-9	0.21	0.30	0.04	0.18

C _{18:1} t-10	0.21	0.25	0.04	0.52
C _{18:1} t11	2.94	3.26	0.52	0.66
C _{18:1} t-12	0.38	0.22	0.03	0.01
C _{18:1} t-15	0.07	0.10	0.02	0.23
C _{18:1} c-9	8.40	15.42	2.58	0.07
C _{18:1} c-11	0.60	0.96	0.17	0.16
C _{18:1} c-12	0.46	0.42	0.09	0.76
C _{20:1}	0.73	0.81	0.08	0.52
C _{22:1}	0.16	0.44	0.07	0.01
C _{24:1}	1.65	0.54	0.24	0.005
Total AG mono-insaturados	19.4	23.5	3.55	0.43
C _{18:2} ω-6	12.01	14.14	1.71	0.39
C _{18:2} <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	0.46	0.48	0.12	0.92
C _{18:2} <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0.10	0.16	0.07	0.60
C _{18:3} ω-3	0.46	0.48	0.06	0.77
C _{18:3} ω-6	0.23	0.71	0.07	0.0004
C _{20:2}	0.16	0.17	0.03	0.90
C _{20:3} ω-6	0.68	0.16	0.16	0.05
Total AG poli-insaturados	13.70	16.03	1.80	0.37
Desconocidos	11.28	1.16	0.87	<0.0001

¹ Tomado de Bernal et al. (2018)

Igualmente, los isómeros de CLA C_{18:2} *cis*-9,*trans*-11 y C_{18:2} *trans*-10,*cis*-12 están dentro del perfil de cecotrofos y heces duras. Sin embargo, se desconoce cuáles bacterias los producen. Existen estudios de bacterias en conejos y están presentes en su intestino: *Bacteroides* (Papadomichelakis et al., 2010) y *Staphylococcus* (Comi y Cantoni, 1984). No obstante, se ha observado que la formación de los isómeros de CLA en otras especies se origina por géneros

bacterianos como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Roseburia* y *Butirivibrio* (Devillard et al., 2007). Sería indispensable incrementar los estudios de bacterias intestinales en los conejos para conocer más acerca de los géneros bacterianos y su posible relación con el CLA.

Aunque no hubo diferencia en el total de los AG mono y poli-insaturados, sí hubo diferencias en AG específicos dentro de esas categorías, siendo resultado también de la actividad de la microbiota, posiblemente por la actividad de biohidrogenación parcial o por la inclusión de insaturaciones, esta última, claramente observada por la presencia de los isómeros de CLA en los cecotrofos y en las heces duras.

VII. CONCLUSIONES

La administración oral del CLA en las conejas lactantes no alteró su peso corporal, su consumo de materia seca ni su producción de leche. La composición química de la leche y el peso corporal de las camadas tampoco fueron afectados por la suplementación del CLA.

El efecto del CLA sobre la composición química y el perfil de los ácidos grasos de la leche de la coneja fue evidente en la reducción de los AG de cadena larga mono-insaturados y poli-insaturados e incrementando la concentración C_{21:0}.

El perfil de los ácidos grasos lácteos se presentaron diferencias entre el contenido de ácidos grasos de 18 a 22 carbonos saturados y poli-insaturados, así como en los isómeros de CLA *cis-9,trans-11* y *trans-10,cis-12* que se han visto incrementados en la leche por la administración oral del CLA, lo cual es un reflejo de la importancia de la lactancia materna permitiendo la transferencia de los nutrientes contenidos tanto en el alimento como a través de la cecotrofia para ser utilizados en la leche como alimento para las crías.

En conjunto con los AG del alimento, los AG de los cecotrofos contribuyeron con AG modificados, a través de los procesos de fermentación cecal y presentados por la cecotrofia para una segunda digestión y absorción. La importancia de la biohidrogenación cecal del alimento fue evidente por el incremento de los AG saturados en los cecotrofos y la leche. Sin embargo, también la presencia de AG mono y poli-insaturados sugieren una importante actividad de desaturación, jugando un papel importante las saturaciones y las diversas insaturaciones dadas por la importante actividad de las enzimas, siendo la cecotrofia el proceso digestivo clave para reutilizar los sustratos.

El perfil de AG de la leche de la coneja puede ser influenciado por los AG del alimento y por los AG presentes en los cecotrofos, todos los cuales contribuyen aportando características químicas a la fracción grasa de la leche, incluyendo AG esenciales y AG biológicamente activos como el CLA *cis-9,trans-11* y *trans-10,cis-*

12 encontrados en los animales del grupo en donde no se administró CLA. Se encontraron correlaciones importantes entre los AG de la leche y de los cecotrofos, algunas significativas y otras no. La relación de los isómeros de CLA con la cantidad de ácido vaccénico se esperaba que hubiera sido alta, lo cual no ocurrió.

Los compuestos que se encuentran en el alimento, así como los AG administrados de manera oral e incluidos también en la dieta, han resultado ser elementos muy importantes en los conejos, sobre todo por las características que les otorga la microbiota intestinal, ya que permiten transformar a los AG en compuestos grasos con efectos biológicos notables en los organismos, tal es el ejemplo de los isómeros de CLA. De esta manera, los lepóridos han resultado ser animales peculiares en la modificación de los AG, ampliándose las alternativas de transformación de los AG, así como en los rumiantes, pero con mecanismos similares y propios para su especie. Los conejos aparentemente pueden ser vistos como organismos insignificantes, pero han resultado destacar de entre todas las especies animales por la forma en la que metabolizan a los AG.

Los resultados relacionados con el efecto del CLA sobre la composición de la grasa de la coneja fueron publicados en Bernal et al., 2019, y los relativos a la influencia de los ácidos grasos presentes en el alimento y en los cecotrofos sobre las características de la grasa de la leche de la coneja, se publicaron en Betancourt et al., 2018.

VIII. LITERATURA CITADA

- Amici, A., Canganella, F. and L. Bevilacqua. 1998. Effects of high ambient temperature in rabbits: metabolic changes, caecal fermentation and bacterial flora. *World Rabbit Sci.* 6: 319-324.
- Anderson, S. M., Rudolph. M. C., McManaman, J. L. and M. C. Neville. 2007. Key stages in mammary gland development. Secretory activation in the mammary gland: it's not just about milk protein synthesis. *Breast Cancer Res.* 9:204.
- Angulo, J., Mahecha, J. y M. Olivera. 2009. Síntesis, composición y modificación de la grasa de la leche bovina: un nutriente valioso para la salud humana. *Rev. MVZ Córdoba* 14:1856-1866.
- Barrett, E. Kim., Barman, M. Susan., Boitano, S. and Heddwen. L. Brooks. 2016. *Fisiología médica*. Ed. Mc Graw Hill. 25ª edición. México.
- Bauman, D. E. and J. M. Griinari. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nut.* 23:203-227.
- Bauman, D.E. and A. L. Lock. 2006. Conjugated linoleic acid: biosynthesis and nutritional significance. Pp 93-135. in *Advanced Dairy Chemistry, Vol. 2: Lipids*, 3rd ed. P. F. Fox and P.L.H. McSweeney, ed. Springer, New York, NY.
- Baumgard, L. H., J. K. Sangster and D. E. Bauman. 2001. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA). *J. Nutr.* 131:1764-1769.
- Baumgard, L. H., Matitashvili, E., Corl, B. A., Dwyer, D. A. and D. E. Bauman. 2002. *Trans*-10, *cis*-12 Conjugated linoleic acid decreases lipogenic rates and expression of genes involved in milk lipids synthesis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:2155-2163.
- Benchaar, C., McAllister, T. A. and P. Y. Chouinard. 2008. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows

fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extracts. *J. Dairy Sci.* 91:4765-4777.

Bernal S. M. G., Betancourt, L. C. A., Vázquez, L. P. A., Bauman, D. E., Harvatine, K. J., Gaspar, S. D. y M. R. Parada. H. 2019. Influencia del ácido linoleico conjugado (CLA) sobre el perfil de los ácidos grasos de la leche de coneja. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 27:1-4.

Bernal, S.G., Perfield, J. W., Barbano, D. M., Bauman D. E. and T. R. Overton. 2003. Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *J. Dairy Sci.* 86:3218-3228.

Betancourt López, C. A., Bernal Santos, M. G., Vázquez Landaverde, P. A., Bauman, D. E., Harvatine K. J., Srigley, C. T. and J. Becerra Becerra. 2018. Both dietary fatty acids and those present in the cecotrophs contribute to the distinctive chemical characteristics of New Zealand rabbit milk Fat. *Lipids.* 53:1085-1096.

Betancourt, L. C. 2013. Efecto de diferentes niveles de ácido linoleico conjugado sobre el perfil de los ácidos grasos de la grasa de la leche de coneja durante las primeras dos semanas de lactancia. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro. México.

Carey, E. M. and R. Dils. 1972. The pattern of FA synthesis in lactating rabbit mammary gland studied in vivo. *Biochem. J.* 126:1005-1007.

Carey, E. M. and R. Dils. 1972. The pattern of fatty acid synthesis in lactating rabbit mammary gland studied in vivo. *Biochem. J.* 126:1005-1007.

Castillo, V. J., Olivera, A. M. y J. Carulla, F. 2013. Descripción del mecanismo bioquímico de la biohidrogenación en el rumen de ácidos grasos poliinsaturados: una revisión. *Rev. U.D.CA Act. & Div. Cient.* 16:459-468.

Cathy, A. D. J. 2006. Anatomy and physiology of the rabbit and rodent gastrointestinal system. *Avian Proceedings.* pp. 9-17.

- Cervera, C., Fernández, J., Viudes, P. and E. Blas. 1993. Effect of remating interval and diet on the performance of female rabbits and their litters. *Anim production*. 3: 399-405.
- Chilliard, Y., Ferlay, A. and M. Doreau. 2001. Contrôle de la qualité nutritionnelle des matières grasses du lait par l'alimentation des vaches laitières : acides gras trans, polyinsaturés, acide linoléique conjugué. *INRA Prod. Anim.* 14:323-335.
- Chouinard, P. Y., Corneau, L., Barbano, M. D., Metzger, E. L., and D. E. Bauman. 1999. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J. Nutr.* 129:1579-1584.
- Christie, W. W. 1982. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. *J. Lipid Res.* 23:1072-1075.
- Comi, G. y C. Cantoni. 1984. La flora microbiana intestinal. *Conigliocoltura*, 21:79-81.
- Corino, C., Lo fiego, D. P., Macchioni, P., Pastorelli, B., Di Giacamillo, A., Domeneghini, C. and R. Rossi. 2007. Influence of dietary conjugated linoleic acids and vitamin E on meat quality and adipose tissue in rabbits. *Meat Sci.* 76:19-28.
- Cowie, A. T. 1969. Variation in the yield and composition of the milk during lactation in the rabbit and galactopoietic effect of prolactin. *J. Endocrinol.* 44:437-450.
- Cowie, A. T. 1969. Variation in the yield and composition of the milk during lactation in the rabbit and galactopoietic effect of prolactin. *J. Endocrinol.* 44:437-450.
- De Blas, C. and J. Wiseman. 1998. *The nutrition of rabbit*. London UK. pp 1-12.
- Fortun, L. L. 1997. Effects of dietary fat on reproductive performance of rabbit does: a review. *World Rabbit Sci.* 5: 33-38.

- Fraga, M.J., Lorente, M., Carabaño R. M., and De Blas. J. C. 1989. Effect of diet and remating Interval on milk production and milk composition of the doe rabbit. *Anim. Prod.* 48: 459-466.
- Gidenne, T. 1997. Caeco-colic digestion in the growing rabbit: impact of nutritional factors and related disturbances. *Livestock Production science.* 51: 73-88.
- Glass, R. L., Troolin, A. H. and R. Jennes. 1967. Comparative biochemical studies of milks IV. Constituent FA of milk fats. *Comp. Biochem Physiol.* 22:415-425.
- Glass, R.L., Troolin, A. H. y R. Jennes. 1967. Comparative biochemical studies of milks IV. Constituent fatty acids of milk fats. *Comp. Biochem. Physiol.* 22:415-425.
- Gómez Cortés, P. y M. A. de la Fuente. 2021. Origen metabólico y propiedades bioactivas de ácidos grasos ramificados e impares en leche de rumiantes. Revisión. *Rev. mex. de cienc. pecuarias.* 11:1174-1191.
- Gómez-Ramos, B., Ortíz-Rodríguez, R., Román-Bravo, R. M. y J. Herrera C. 2011. Caracterización la producción de leche de la coneja con énfasis en la supervivencia y crecimiento de la camada en razas nueva zelanda blanco y california. *Tropical and subtropical agroecosystems.* 14:15-33.
- Griinari, J. M. and D. E. Bauman. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research.* Vol. 1., M. P. Yurawecz, M. M. Mossoba, M. W. Pariza, and G. J. Nelson, eds., pp. 180-200. AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Hall, A. J. 1970. FA composition of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) milk fat throughout lactation. *Int. J. Biochem.* 414-418.
- Hall, A.J. 1970. Fatty acid composition of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) milk fat throughout lactation. *Int. J. Biochem.* 414-418.
- Han, L. Q. Pang, K. Li H. J., Zhu, S. B.m, Wang, L, F., Wang, Y. B., Yang, G. Q. and G. Y. Yang. 2012. Conjugated linoleic acid-induced milk fat reduction

- associated with depressed expression of lipogenic genes in lactating Holstein mammary glands. *Genet. Mol. Res.* 11: 4754-4764.
- Harvatine K. J., Boisclair, Y. R. and D. E. Bauman. 2009. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal* 3:40-54.
- Hobson, P. N. and C.S. Stewart.1997. The rumen microbial ecosystem. 2a edición. Chapman and Hall. pp 12-41.
- Kemp, P. and D. J. Lander. 1984. Hydrogenation in vitro of α -linoleic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 130:527-533.
- keweloh, H. and H. J. Heipieper. 1996. *Trans* unsaturated fatty acids in bacteria. *Lipids.* 2:129-137.
- Kimsé, J., Monteils, V., Bayourthe, C. and T. Gidenne. 2009. A new method to measure the redox potential (Eh) in rabbit caecum: relationship with pH and fermentation pattern. *World rabbit sci.* 17:63-70.
- Kowalska, D and P. Bielanski, 2004. Effect of supplemental dietary fat for rabbits on milk composition and rearing performance of young rabbits. *Proceeding of 8th World Rabbit Congress.* pp: 860-873.
- Kramer, John K. G., Fellner, Vivek., Dugan, Michael., Sauer Frank D., Mossoba, Magdi M., and Yurawecz, Martin. 1997. Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. *Lipids.* 31,1219-1228.
- Krichevsky, D. 1999. Advances in conjugated linoleic acid research. Vol 1. Chapter 31. pp 397-403.
- Lebas, F. and L. L. Fortun. 1996. Effects of dietary energy level and origin (Starch Vs Oil) on performance of rabbits does and their litters: average situation after 4 weanings. *World Rabbit Congrese.* 1: 217-223.

- Lebas, F., Coudert, P., de Rochambeau, H. y R. G. Thébault. 1996. El conejo: cría y patología. FAO. Pp 32.
- Leiber, F., Meier, J. S., Burger, B., Wettstein, H. R, Kreuzer, M., Hatt, J. M. and M. Clauss.2008. Significance of coprophagy for the fatty acid profile in body tissues of rabbit fed different diets. *Lipids*. 43:853-865.
- Lleonart, F. 1999. Genex lap: La regulación más natural del intestino del conejo. *Lagomorpha* 101: 26-29.
- Maertens, L. 1998. Fats in rabbit nutrition: A review. *World Rabbit Sci*. 6:341-348.
- Maertens, L., Lebas, F. and Z. Szendro. 2006. Rabbit milk: a review of quantity, quality and non-dietary affecting factors. *WorldRabbitSci*. 14:205-230.
- Martínez, M. A. L., Pérez, H. M., Pérez, A. L., Gómez, C. G. y D. Carrión. P. 2010. Metabolismo de los lípidos en los rumiantes. *REDVET*. 11:1-21.
- Mckee, T. y J. Mckee. 2003. *Bioquímica. La base molecular de la vida*. McGraw-Hill. Interamericana. 3ed. España.
- Mellenberger, R. W. and D. E. Bauman. 1974. Fatty acid synthesis in rabbit mammary tissue during pregnancy and lactation. *Biochem J*. 138: 373-379.
- Mellenberger, R. W. and D. E. Bauman. 1974. Metabolic adaptations during lactogénesis. *Biochem J*. 138:373-379.
- Michaud, A. L. Lawrence, P., Adlof, R., and J. T. Brenna. 2005. On the formation of conjugated linoleic acid diagnostic ions with acetonitrile chemical ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 19: 363-368.
- Molina, L. J. y C. A. Eslava. 2014. Patotipos de *Escherichia coli* diarrogénica. Departamento de Microbiología y Parasitología-Recursos en Bacteriología. Universidad Nacional Autónoma de México. UNAM. Correo electrónico: joseml@unam.mx.Dirección electrónica:<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>. Consultado 7 de enero de 2015.

- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A. y V. W. Rodwell. 2001. *Bioquímica de Harper*. 15a edición. Manual Moderno. México.
- Natalis, J. Y. 1977. Digestion en el intestino delgado del conejo. *Le courrier avicole*, 604: 120-121.
- Nelson, L. David and Michael M. Cox. 2009. *Lehninger Principios de Bioquímica*. ^a edición. W.H. Freeman. New York.
- Padilha, M. T. S., Licois, D., Gidenne, T., Carré, B. and G. Fonty. 1995. Relationships between microflora and caecal fermentation in rabbits before and after weaning. *Reprod Nutr Dev*. 34:375-386.
- Papadomichelakis, G., Mountzouris, K. C., Paraskevakis, N. and K. Fegeros. 2010. Caecum odd-numbered and branched-chain fatty acid composition in response to dietary changes in fattening rabbits. *J Anim Physiol Anim Nutr*. 95:707-716.
- Peterson, D. B. Matitashvili, E. and D. E. Bauman. 2004. The inhibitory effect of trans-10, cis-12 CLA on lipid synthesis in bovine mammary epithelial cells involves reduced proteolytic activation of the transcription factor SREBP-1^{1,2}. *J Nutr*. 134:2523-2527.
- Piattoni, F., Demeyer, D. and L. Maertens. 1997. Fasting effects on invitro fermentation pattern of rabbit caecal contents. *World Rabbit Sci*. 5:23-26.
- Proto, V. 1976. Papel de la cecotrofia en el conejo. *Coniglicultura* 13:15-33.
- Qu, Q., Zeng, F., Liu, X., Wang, Q. J., and F. Deng. 2016. Fatty acid oxidation and carnitine palmitoyltransferase I: emerging therapeutic targets in cancer. *Cell Death Dis*. 7:e2226.
- Řezanka, T. and K. Sigler. 2009. Odd-numbered very long chain fatty acids from the microbial, animal and plant kingdoms. *Proq. Lipid Res*. 48 (3-4):206-238.
- Roca, F. L. 2005. Resultados de los ácidos eicosapentanoico y docosahexanoico (EPA y DHA) sobre la fertilidad, prolificidad y producción lechera de las conejas. XXX Symposium de cunicultura. Valladolid. pp. 91-98.

- Rodríguez, C. M., Tovar, R. A., del Prado, M. y N. Torres. 2005. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. 457-472.
- Samaniego, F. L. y M. Sosa. 2000. *Lactobacillus spp.*: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora. Editorial universitaria. La Habana.
- Sanz, Y., Collado, M. C. y J. Dalmau. 2006. Contribución de la microbiota intestinal y del género *Bifidobacterium* a los mecanismos de defensa del huésped frente a patógenos gastrointestinales. *Acta Pediatr Esp.* 64:74-78.
- SAS. 2001. SAS user's Guide: Statistics, Version 7 Edition. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Strong, C. R. and R. Dils. 1972a. FA biosynthesis in rabbit mammary gland during pregnancy and early lactation. *Biochem. J.* 128:1303-1309.
- Strong, C. R. and R. Dils. 1972b. FA synthesized by mammary gland slices from lactating guinea pig and rabbit. *Comp Biochem. Physiol.* 43:643-652.
- Strong, C. R. and R. Dils. 1972a. Fatty acid biosynthesis in rabbit mammary gland during pregnancy and early lactation. *Biochem. J.* 128:1303-1309.
- Strong, C. R. and R. Dils. 1972b. Fatty acid synthesized by mammary gland slices from lactating guinea pig and rabbit. *Comp. Biochem. Physiol.* 43:643-652.
- Strong, C. R., Forsyth, I. and R. Dils. 1972. The effects of hormones on milk-fat synthesis in mammary explants from pseudopregnant rabbits. *Biochem. J.* 128: 509-519
- Tanaka, K. 2005. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and physiological functions. *J. Anim Sci.* 76:291-303.
- Tekippe, J. A., Tacoma, R., Hristov, A. N., Lee, C., Oh, J., Heyler, K. S., Cassidy, T. W., Varga, G. A. and D. Bravo. 2013. Effect of essential oils on ruminal

- fermentation and lactation performance of dairy cows. *J Dairy Sci.* 96:7892-7903.
- Van Pelt, C. K. and J. T. Brenna. 1999. Acetonitrile chemical ionization tandem mass spectrometry to locate double bonds in polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Analytical Chemistry.* 71: 1982-1989.
- Van Soest, P J. 1982. *Nutritional ecology of the ruminant.* 1a edición. Durhan and Downy, Inc. USA. Pp 155.
- Wallace, R. J., McKain, N., Shingfield, K. J. and E. Devillard. 2007. Isomers of conjugated linoleic acids are synthesized via different mechanisms in ruminal digesta and bacteria. *J. Lipid Res.* 48:2247-2254.
- Wright, T. C., Cant, J. P., Brenna, J. T. and B. W. McBride. 2006. Acetyl CoA Carboxylase shares control of fatty acid synthesis with fatty acid synthase in bovine mammary homogenate. *J. Dairy Sci.* 89: 2552-2558.
- Xiccato, G., Parigi-Bini, R., Dalle, Z. Z., Carazzolo, A. and E. Cossu. 1995. Effect of dietary level, addition of fat and physiological state on performance and energy balance of lactating and pregnant rabbit does. *Anim Sci.* 61:387-398.
- Xiccato, G., Trocino, A., Sartori, A., y P. I. Queaque. 2003. Efecto del orden de parto y de la edad al destete de la camada sobre la productividad y balance energético de las conejas reproductoras. *Asociación española de cunicultura (ASESCU) XXVIII Simposium de cunicultura. Alcañiz (Teruel).*
- Zeng, B., Han, S., Wang, P., Wen, B., Jian, W., Guo, W., YU, Z., Du, D., Fu, X., Kong, F., Yang, M., Si, X., Zhao, J. and Y. Li. 2015. The bacterial communities associated with fecal types and body weight of rex rabbits. *Sci. rep.* 5:9342.
- Zobel, G., Weary, D. M., Leslie, K. E. and M. A. G. von Keyserlingk. 2015. Invited review: Cessation of lactation: Effects on animal welfare. *J. Dairy Sci.* 98: 8263-8277.