



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

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

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestro en Ciencias-Recursos Bióticos

Presenta

Claudia Azucena Betancourt López

Centro Universitario

Querétaro, Qro.

Diciembre, 2012

México



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Ciencias-Recursos Bióticos

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

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencias-Recursos Bióticos

Presenta

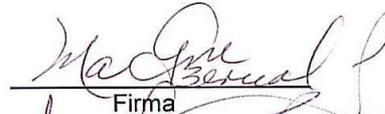
Claudia Azucena Betancourt López

Dirigida por:

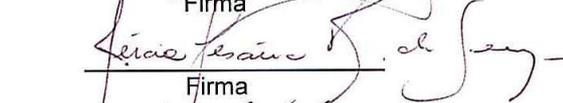
Dra. María Guadalupe Bernal Santos

SINODALES

Dra. María Guadalupe Bernal Santos
Presidente


Firma

Dra. Tércia Cesária Reis de Souza
Secretario


Firma

M. en C. Araceli Aguilera Barreyro
Vocal


Firma

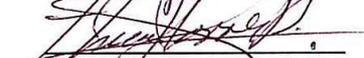
M. en C. Konisgmar Escobar García
Suplente


Firma

M. en C. José Guadalupe Gómez Soto
Suplente


Firma


Dra. Teresa García Gasca
Directora de la Facultad .
de Ciencias Naturales


Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación
y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Diciembre, 2012
México

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar los cambios que provoca el ácido linoleico conjugado (CLA) en la composición química y el perfil de los ácidos grasos de la grasa en el coágulo de leche de las conejas durante las primeras dos semanas de lactación. Se emplearon 39 conejas de la raza Nueva Zelanda cada una con 6 gazapos, distribuidas entre cuatro tratamientos: a) grupo control, infusión de 1 ml de agua; b) infusión de 155.2 mg de CLA/kg peso metabólico (PM), c) infusión de 310.4 mg CLA/kg PM y d) infusión de 620.8 mg CLA/kg PM. La dosis se administró vía oral en dos partes desde el día 5 hasta el 12 postparto. Durante los 13 días postparto, se pesaron las camadas antes y después del amamantamiento para estimar la producción de leche de la madre. El día 13 posparto se sacrificaron los gazapos para obtener el coágulo de leche del estómago para determinar su composición química y su perfil de los ácidos grasos. No se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos ($P > 0.1$) para producción de leche (129.9 ± 9.9 g/d), cambio de peso corporal de las madres (3.8 ± 0.1 kg), peso de los gazapos (1469.359 ± 73.41 g) y consumo de alimento de las madres (298.9 ± 10.1 g). La suplementación de CLA no afectó la composición química del coágulo de la leche ($P > 0.1$), siendo las medias de materia seca ($87.3 \pm 0.7\%$), cenizas ($5.8 \pm 0.1\%$), extracto etéreo ($36.6 \pm 1.3\%$), proteína cruda ($34.6 \pm 0.6\%$) y energía bruta (6890 ± 101.5 cal/g). Algunos ácidos grasos de cadena larga se redujeron con la suplementación del CLA como sigue: palmítico ($C_{16:0}$, $P < 0.03$), oleico ($C_{18:1}$, *cis*9, $P < 0.03$), eicosanoico $\omega 6$ ($C_{20:2}$, $P < 0.01$) y el docosapentanoico ($C_{22:5}$, $P < 0.03$). Sin embargo, el CLA incrementó la concentración de araquídico ($C_{20:0}$, $P < 0.0005$), CLA *cis*-9, *trans*-11 ($C_{18:2}$, $P < 0.0001$) y CLA *trans*-10, *cis*-12, ($C_{18:2}$, $P < 0.0001$) conforme se aumentó el nivel de CLA. La reducción del contenido de ácido palmítico y de los otros ácidos de cadena larga indica que el CLA influyó negativamente la síntesis *de novo* de los ácidos grasos, la cual es la principal vía de síntesis de los ácidos grasos de la leche de la coneja.

(**Palabras clave:** ácido linoleico conjugado, ácidos grasos, conejas Nueva Zelanda, síntesis de leche)

SUMMARY

The study was designed to evaluate the changes induced by conjugated linoleic acid (CLA) on the chemical composition and milk clot fatty acid profile in rabbits during the first two weeks of lactation. Thirty-nine New Zealand does were used, each with 6 bunnies, distributed into 4 treatments: a) control group, infusion of 1 ml of water; b) 155.2 mg CLA/kg Metabolic Body Weight (MBW); c) 310.4 mg CLA/kg MBW; and d) 620.8 mg CLA/kg MBW. Doses were administered daily twice a day, starting on day 5th until day 12th postpartum. Milk production by mothers was estimated by difference in litter weight before and after lactating. On day 13th bunnies were sacrificed to obtain the stomach milk clot for chemical analyses and fatty acid profile of milk clot fat. No differences were found between treatments ($P>0.1$) for milk production (129.9 ± 9.9 g/d), mother's body weight change (3.8 ± 0.1 kg), litter weight (1469.359 ± 73.41 g) and mother's feed intake (298.9 ± 10.1 g/d). CLA infusion did not affect chemical composition of milk clot ($P>0.1$), with means for dry matter ($87.3\pm 0.7\%$), ash ($5.8\pm 0.1\%$), ether extract ($36.6\pm 1.3\%$), protein crude ($34.6\pm 0.6\%$) and gross energy (6890 ± 101.5 cal/g). Some long chain fatty acids were reduced by CLA infusion as follows: palmitic ($C_{16:0}$, $P<0.03$), oleic ($C_{18:1}$, *cis*-9, $P<0.03$), eicosaenoic ω 6 ($C_{20:2}$, $P<0.01$), docosapentaenoic ($C_{22:5}$, $P<0.03$). However, CLA infusion increased concentrations of arachidonic ($C_{20:0}$, $P<0.0005$), CLA *cis*-9, *trans*-11 ($C_{18:2}$, $P<0.0001$) and CLA *trans*-10, *cis*-12, ($C_{18:2}$, $P<0.0001$) according to level infused. Reduction in palmitic acid and other long chain fatty acids indicate that CLA negatively influenced *de novo* fatty acid synthesis, which is the main path for milk fat synthesis in rabbits.

(Key words: conjugated linoleic acid, fatty acids, New Zealand rabbits, milk synthesis)

DEDICATORIA

A mi familia

A mis Padres

Simón Betancourt Grado

Martha López

Mis hermanos

Juan, Norma y Francisco

Mis sobrinos

Jimena, peque y enano

AGRADECIMIENTOS

A mis profesores por toda su ayuda, enseñanza y comprensión.

A mis amigos por su apoyo y momentos que compartimos.

A la Universidad Autónoma de Querétaro, en particular a la Facultad de Ciencias Naturales por todas las facilidades brindadas para el desarrollo del experimento.

A la empresa Malta Texo de México, S.A. de C.V. por la donación y elaboración del alimento y de las raciones experimentales.

y a Dios

por permitirme tener esta experiencia que es quizás lo mejor que me ha pasado, jamás en mi vida había sido tan feliz.

ÍNDICE

	Página
Resumen.....	i
Summary	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Índice.....	v
Índice de cuadros.....	vii
Índice de figuras.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
II.I Generalidades de los lípidos.....	3
II.II Metabolismo de los ácidos grasos.....	5
II.III Síntesis de los ácidos grasos.....	5
II.IV Alargamiento de los ácidos grasos	7
II.V Precursores de los ácidos grasos.....	7
II.VI El ácido linoleico conjugado (CLA).....	8
III. VII Ácidos grasos esenciales.....	11
III. VIII Síntesis de la grasa en la leche.....	12
III. IX Composición lipídica de la leche y estructura del glóbulo de grasa en la leche.....	13
III.X La regulación de la síntesis de lípidos	14
III.XI Características del aparato digestivo de los conejos	17
III. HIPÓTESIS	19
IV. OBJETIVOS	19
IV.I OBJETIVO GENERAL.....	19
IV.II Objetivos particulares	19
V. METODOLOGÍA	19
V.I Localización del estudio	19
V.II Animales experimentales	19
V.III Alimentación	20
V.IV Tratamientos.....	21
V.V Estimación de la producción de leche	21
V.VI Obtención de las muestras de coágulo de leche	22
V.VII Análisis químicos	22

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
VIII. CONCLUSIÓN.....	35
IX. IMPLICACIONES.....	35
X. BIBLIOGRAFÍA	36

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Enzimas que integran a la sintetasa de los ácidos grasos en la síntesis <i>de novo</i> y sus funciones.....	6
2	Composición química del alimento de conejos reproductores.....	20
3	Peso de las madres al parto y al día 13 postparto, la producción de leche y el consumo de alimento y peso de los gazapos a través de los niveles de CLA administrados.....	25
4	Composición química del coágulo de leche de coneja recibiendo diferentes niveles de CLA.....	27
5	Perfil de los ácidos grasos del coágulo de leche de coneja recibiendo diferentes niveles de CLA.....	29
6	Perfil de los ácidos grasos del alimento de reproductores Malta Cleyton®.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura de los ácidos grasos	3
2	Estructura de los ácidos grasos A saturado, B insaturado y enlace en configuración cis.....	4
3	Ruta metabólica de la glucólisis y la síntesis de lípidos.....	6
4	Precursores de ácidos grasos saturados y poliinsaturados	8
5	El ácido linoleico y su comparación con los isómeros del CLA cis-9 trans 11 y trans-10, cis-12	9
6	Vía de biohidrogenación del ácido linoleico y ácido linoleico conjugado (CLA) bajo fermentación ruminal normal y alterada.....	12
7	Estructura general del glóbulo de grasa de la leche.....	14
8	Diagrama de vías y actividades coordinadas durante la síntesis y secreción de la grasa de la leche	15
9	Sistema digestivo del Conejo	18
10	Jaula de reproductoras con área para la coneja y nido para las crías.....	20
11	Cronograma de experimentación, de acuerdo a los días postparto de las conejas, indicando el periodo de inicio de la administración del CLA y el sacrificio de las crías.....	21
12	Producción de leche de conejas durante los primeros 11 días postparto recibiendo diferentes niveles de CLA.....	26
13	Cambio de peso de las camadas de conejas Nueva Zelanda recibiendo diferentes niveles de CLA durante los primeros 12 días postparto	26

I. INTRODUCCIÓN

El ácido linoleico conjugado (CLA por sus siglas en inglés) es un término usado para describir a un grupo de isómeros de los ácidos grasos octadecanoicos con un doble enlace conjugado (adyacentes). Algunos de estos isómeros han demostrado ser antilipogénicos, anticarcinogénicos, antidiabetogénicos y tener efectos positivos sobre el sistema inmune. La mayoría de los trabajos de investigación en producción animal están dirigidos a evaluar el CLA como agente antilipogénico para favorecer la salud y la productividad de los animales, pero cuidando las características nutritivas y organolépticas de los productos consumidos por el humano. Otro aspecto importante al que se enfoca la investigación con el CLA está orientado a conocer los mecanismos celulares sobre los que este AG está operando para regular la síntesis de lípidos.

Diversas investigaciones han sido realizadas con el fin de dilucidar las cualidades funcionales de este tipo de aceites en bovinos, ovinos, caprinos, suinos y ratones. En bovinos productores de leche, el CLA ha resultado ser una herramienta importante para lograr dilucidar los mecanismos básicos a nivel celular que determinan la depresión grasa en la leche en el rumiante. Algunos de los mecanismos que se conocen hasta ahora describen el papel del CLA como regulador de factores de expresión génica de algunas enzimas lipogénicas (Bauman et al., 2008), donde la síntesis de la grasa en la leche se lleva a cabo a partir de los ácidos grasos que aparecen en la circulación provenientes del alimento, o en ocasiones de los que son movilizados de las reservas del tejido adiposo.

La grasa de la leche de cualquier especie es el componente más valioso del producto, cuya concentración también es la que más se puede alterar mediante la dieta o con otros suplementos. Uno de los principales factores que afectan su concentración de la grasa es la nutrición, habiéndose identificado problemas de depresión grasa, principalmente en rumiantes, por factores relacionados a la nutrición y a la biohidrogenación en el rumen de las grasas, las cuales dan como resultado moléculas bioactivas como el CLA, capaces de modificar el metabolismo de las grasas en la glándula mamaria. Los dos isómeros del CLA de mayor abundancia en la leche de la vaca y que más se han evaluado en ganado lechero son el CLA *cis*-9, *trans*-11 y el CLA *trans*-10, *cis*-12. A pesar de la similitud entre estos ácidos grasos, los efectos biológicos de cada uno son muy diferentes; el primero tiene un mayor efecto anticarcinogénico y el segundo tiene un potente efecto inhibidor de la síntesis de grasa en el tejido adiposo y en la glándula mamaria de la vaca lechera.

Por el momento, la finalidad de esta investigación no está enfocada a la cunicultura en sí, sino a evaluar si la composición química y el perfil de los ácidos grasos del coágulo de leche de la coneja son alterados por la suplementación oral del CLA.

Hasta ahora no se han evaluado los cambios en la cantidad y en la calidad de la grasa de la leche de conejas lactantes cuando se suplementa el CLA, ni su efecto sobre el crecimiento de sus crías ni sobre los procesos enzimáticos involucrados en su lipogénesis. La coneja un caso especial, ya que alrededor del 90% de los ácidos grasos en su leche son sintetizados *de novo* por lo que representa un modelo interesante para conocer si el CLA está involucrado en la regulación de la lipogénesis a ese nivel, a diferencia de lo que se ha visto en otros mamíferos donde el proceso de elongación predomina sobre el *de novo*.

Con base en estos antecedentes, el presente estudio fue diseñado para conocer si el CLA tiene algún efecto sobre la productividad de las conejas en términos del crecimiento de sus gazapos, así como para conocer los cambios en el contenido de grasa de la leche de conejas y de su perfil de ácidos grasos, cuando se suplementa durante los primeros 12 días posparto.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Los lípidos se han considerado como uno de los nutrimentos más importantes en el metabolismo energético en los seres vivos. Sin embargo, recientemente se han descubierto actividades adicionales a su papel como nutrimento, los cuales tienen que ver con funciones específicas en el metabolismo, por lo que a algunos ácidos grasos (AG) se les ha incluido dentro del grupo de componentes funcionales del alimento. Tal es el caso del ácido linoléico conjugado (CLA). A continuación se presentarán aspectos relevantes sobre la química y el metabolismo de los lípidos que son importantes para el presente estudio.

II.I Generalidades de los lípidos

Las grasas son compuestos con valor energético elevado, además de que son componentes básicos de los alimentos como las vitaminas liposolubles, componentes estructurales de las membranas celulares, así como los ácidos grasos esenciales (Murray et al., 2001). Todas las variedades de los lípidos son indispensables para el metabolismo, debido a que las funciones orgánicas necesitan de compuestos que les proporcionen energía para utilizarla de manera inmediata o reservarla para efectuar funciones posteriores. Entre otras funciones, actúan como aislante térmico en los animales y brindan protección en el caso de las plantas, además de tener elevado valor energético. En el caso de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), como los llamados omega (ω), presentan un papel importante por los diferentes beneficios que proporcionan como: antiinflamatorio, antidiabetogénico, y antilipogénico esta última propiedad favorece la reducción de problemas cardiovasculares relacionados al colesterol y la obesidad. Los ácidos grasos poliinsaturados están presentes principalmente en productos de origen marino como el pescado, semillas, forrajes verdes, productos y subproductos de origen animal.

Las grasas son ésteres que se derivan del alcohol y el glicerol, a este último se pueden unir tres ácidos grasos formando triglicéridos (Martínez et al., 2010). Los ácidos grasos tienen un grupo carboxilo pero difieren en la cadena carbonada encontrándose entre 8 y 22 carbonos (Figura 1), siendo estos de cadena par, sin embargo también existen de cadenas impares.



Figura 1. Estructura de los ácidos grasos (Champe et al., 2006).

Los lípidos son compuestos presentes en los tejidos animales y vegetales, con la característica de ser solubles en solventes no polares. Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos de cadena alifática hidrófoba, que pueden dividirse en cuatro categorías de acuerdo con el número de carbonos; los ácidos grasos volátiles (AGV) con 2 a 4 carbonos; los de cadena corta con 6-10 carbonos; los de cadena media con 12 a 15 carbonos y los de cadena larga con 16 ó más carbonos. Además, pueden presentar dobles enlaces en su molécula, denominándose insaturados y los que no los presentan son llamados saturados (Figura 2). Los ácidos grasos insaturados (AGI) se clasifican en mono, di, tri o poliinsaturados, de acuerdo al número de dobles enlaces. Este grupo puede mostrar una misma fórmula química, pero tienen diferentes isómeros según la localización de los dobles enlaces en la cadena, los que tienen los iones hidrógeno del mismo lado son llamados (*cis*) o ambos lados (*trans*) (Fernández et al., 2004).

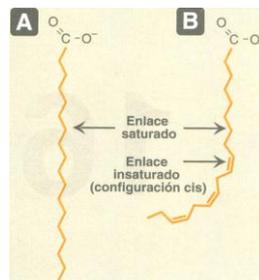


Figura 2. Estructura de los ácidos grasos **A** saturado, **B** insaturado y enlace en configuración *cis*(Champe et al., 2006).

La formación de ácidos grasos saturados o insaturados ocurre debido a procesos enzimáticos. Las enzimas son unidades catalíticas que usualmente tienen funciones subsecuentes para catalizar reacciones relacionadas, de esa manera el producto de la acción de la primer enzima se convierte en el sustrato de la siguiente y sucesivamente. Se pueden encontrar sistemas multienzimáticos que pueden involucrar de 2 a 20, ó más enzimas, actuando en secuencia (Leningher, 1975). Los ácidos grasos insaturados como el linoleico, linolénico y araquidónico son esenciales en la nutrición, mientras que el palmitoleico y el oleico no son esenciales, debido a que en los tejidos se realiza su síntesis. En los organismos animales se introducen dobles enlaces por la acción de las enzimas delta (Δ) mediante reacciones de hidrogenación y oxidación, en las posiciones 4, 5, 6 y 9; en los vegetales en las posiciones 6, 9, 12 y 15 (Murray et al., 2001). Sin embargo, la $\Delta 9$ desaturasa también llamada esteroil-CoA desaturasa (Houseet al., 2005), es la enzima que introduce

dobles enlaces en los ácidos grasos monoinsaturados y se encuentra en el tejido mamario de rumiantes (Harvatine y Bauman, 2006).

II.II Metabolismo de los ácidos grasos

Los ácidos grasos que provienen de la dieta son hidrolizados en el lumen intestinal, a continuación son transportados al enterocito por una proteína de transporte de ácidos grasos. Los ácidos grasos de cadena larga forman triglicéridos y pasan a la circulación linfática en forma de quilomicrones, de esta manera pueden ser conducidos hacia tejidos extra hepáticos (Murray et al., 2001). Una vez encontrado el complejo de lipoproteína en la circulación sanguínea, la enzima lipoproteína lipasa situada en los capilares hidroliza a los triglicéridos liberando a los ácidos grasos para ser oxidados, o pueden ser incorporados en el tejido adiposo y otros tejidos.

El transporte de lípidos en los líquidos corporales se debe a proteínas transportadoras, las cuales serán descritas a continuación. Los triglicéridos y el colesterol que se encuentran en exceso son transportados hacia la sangre en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, $d < 1,006 \text{ g/cm}^3$), los triglicéridos acoplados a estas son hidrolizados por la misma enzima lipasa. Sin embargo los remanentes ricos en colesterol forman las lipoproteínas de densidad baja (LDL, $1,006 < d < 1,019 \text{ g/cm}^3$). La mitad de ellas pueden ser capturadas en el hígado y la otra mitad se convierten en lipoproteínas de baja densidad. Las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL, $1,019 < d < 1,063 \text{ g/cm}^3$) transportan principalmente colesterol esterificado y también el ácido linoléico (siendo éste el AG más frecuente presente en este tipo de lipoproteínas), transportando al colesterol hacia los tejidos periféricos. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL, $1,063 < d < 1,21 \text{ g/cm}^3$) tienen la función de captar el colesterol liberado en el plasma de las células muertas o de la regeneración de las membranas y la enzima aciltransferasa encontrada en la HDL se encarga de esterificar al colesterol, transfiriéndose éste a las VLDL o LDL (Stryer, 1995; Roskoski, 1998).

II.III Síntesis de los ácidos grasos

La ingestión de alimentos con distinto contenido nutrimental permite la formación de diferentes compuestos orgánicos para el mantenimiento de las funciones y la actividad física. En este caso los ácidos grasos son sintetizados por plantas y animales, a través de diferentes reacciones orgánicas y los lípidos ingeridos son los principales precursores de la grasa corporal. Cabe mencionarse que los lípidos son

fuente de una gran cantidad de energía, y además, el exceso de carbohidratos también permite la formación de grasa en el organismo (Roskoski, 1998).

El metabolismo de los seres vivos involucra diferentes tipos de reacciones que tienen la finalidad de suministrar la energía necesaria para todas las funciones orgánicas. El principal metabolito utilizado es la glucosa y su degradación en condiciones aerobias resulta en CO_2 y agua. El proceso anterior provee de gran cantidad de energía. La glucosa convertida en piruvato y este en Acetil-CoA, llega al ciclo de Krebs, que es la vía final para la oxidación de los carbohidratos, los ácidos grasos y los aminoácidos (Roskoski, 1998). Por otro lado, la vía de las pentosas fosfato (Figura 3) es un proceso intermediario, el cual promueve la biosíntesis de los nucleótidos y da origen a los óxido-reductores, específicamente forma el $\text{NADPH}+\text{H}^+$ para utilizarse en la síntesis de lípidos. Por cada molécula de glucosa 6 fosfato que llega a la vía de la pentosa fosfato se forman dos moléculas de $\text{NADPH}+\text{H}^+$.

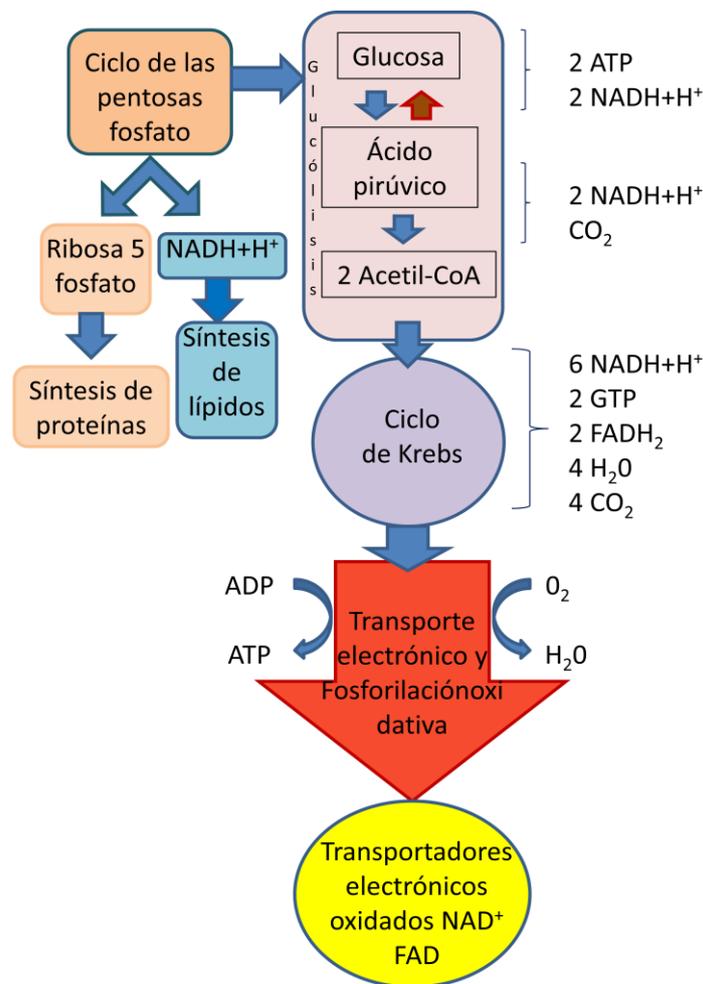


Figura 3. Ruta metabólica de la glucólisis y la síntesis de lípidos (Aguilera y Soto, 2008).

La síntesis de lípidos ocurre por el complejo multienzimático llamado Ácido Graso Sintetasa. La biosíntesis ocurre por pequeñas moléculas que actúan como precursores y este es un proceso que requiere de la intervención de siete diferentes enzimas (Cuadro 1): Proteína transportadora de acilo (ACP), Acetil transacilasa, Cetoacilsintetasa, Maloniltransacilasa, Cetoacilreductasa, Hidroxiacil hidrolasa, y Enoilreductasa. El palmitato es liberado finalmente y el complejo multienzimático se detiene en ese momento (Roskoski, 1998; Murray et al., 2001; Nelson y Cox, 2009).

Cuadro 1. Enzimas que integran a la sintetasa de los ácidos grasos en la síntesis *de novo* y sus funciones (Nelson y Cox, 2009; Murray et al., 2001).

Enzima	Función
Proteína transportadora de acilo (ACP)	Conduce grupos acilo
Acetil transacilasa	Transfiere grupos acilo
Cetoacilsintetasa	Condensa grupos acilo y malonil
Maloniltransacilasa	Transfiere grupos malonil
Cetoacilreductasa	Reduce grupo β -ceto a β -hidroxi
Hidroxiacil hidrolasa	Elimina H_2O
Enoilreductasa	Reduce el doble enlace

II. IV Alargamiento de los ácidos grasos

Se ha mencionado que el proceso de síntesis termina en el momento que se produce el palmitato, sin embargo, el proceso de alargamiento puede extender la cadena de los ácidos grasos por dos átomos de carbono proveniente de la dieta o sintetizado de manera endógena. El donador de cada par adicional en el retículo endoplásmico es la Malonil-CoA y en la mitocondria es la Acetil-CoA, aunque la vía del retículo endoplásmico es la más importante. El sustrato es la Lipoacil-CoA o AcilCoA. El par de carbonos de la Malonil-CoA, se añaden en el extremo carbonilo terminal de la molécula y es una reacción análoga a la condensación durante la biosíntesis, el retículo endoplásmico puede realizar todas las reacciones de la ácido graso sintasa, y entonces ocurre más de una reacción de alargamiento, pudiéndose encontrar ácidos grasos de 26 carbonos. La diferencia se encuentra en que en el retículo endoplásmico el alargamiento ocurre por la Malonil-CoA y en la mitocondria es Acetil-CoA (Roskoski, 1998). Este sistema en el retículo endoplásmico se denomina microsomal y es realizado por la intervención de la ácido graso elongasa (Murray et al., 2001).

II.V Precursores de ácidos grasos

Los ácidos palmítico y esteárico actúan como precursores (Figura 4) de ácidos monoinsaturados en los tejidos animales dando como resultado a los ácidos

palmitoleico y oleico, ambos tienen un doble enlace en el carbono 9, esto ocurre por la acción de una enzima $\Delta 9$ desaturasa (Nelson y Cox, 2009). Puede observarse que la actividad de las enzimas es sumamente importante para la aparición de los diferentes ácidos grasos encontrados en cualquier tejido o secreción como en el caso de la leche, sin embargo, no solamente se pueden encontrar AG monoinsaturados sino también con más de un doble enlace además de los enlaces conjugados, los cuales brindan una mayor importancia a los tejidos o secreciones orgánicas que los contengan.

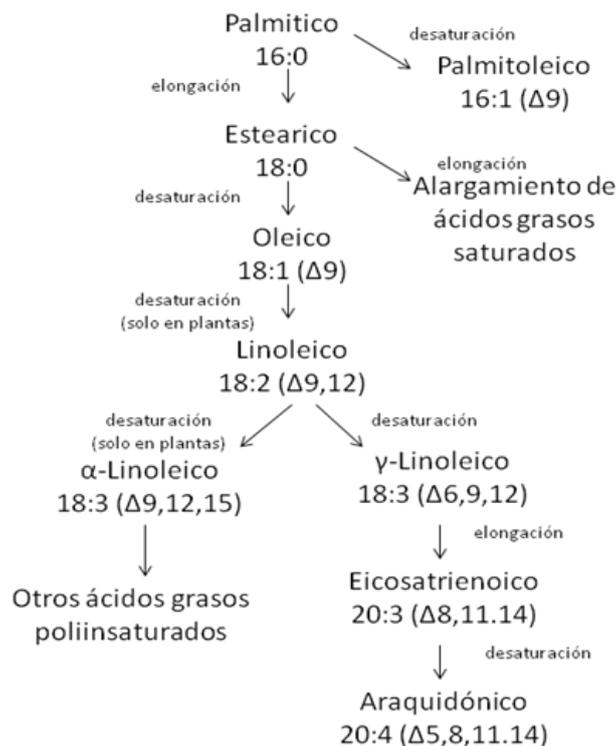


Figura 4. Precursores de ácidos grasos saturados y poliinsaturados (Nelson y Cox, 2009).

II.VI El 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, el cual es encontrado en los productos y subproductos lácteos de bovinos (Figura 5). El primer reporte del CLA fue en el año de 1935 en la grasa de la leche de vacas en pastoreo; posteriormente en 1977 se encontró que el principal isómero que se producía era el *cis-9,trans-11*, e investigaciones a partir del año 1998 mostraron el contenido de los diferentes isómeros en la grasa de rumiante, representados en un 75 a 95% por el *cis-9,trans-11*, y de 3 a 16% por el *trans-7,cis-9*.

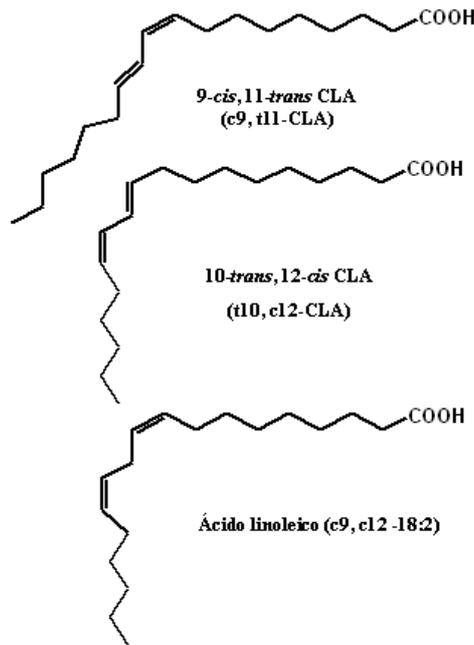


Figura 5. El ácido linoleico y su comparación con los isómeros del CLA *cis*-9, *trans* 11 y *trans*-10, *cis*-12 (García y Aceves, 2005).

Entre la década de 1970 y 1980 se realizaron estudios para conocer las reacciones que ocurrían en los rumiantes para sintetizar el CLA, mencionándose que reacciones de hidrólisis y biohidrogenación en el rumen producen isómeros que se distribuyen en el organismo. Investigaciones realizadas en 1980 encontraron que la enzima $\Delta 9$ desaturasa, presente en el hígado de la rata produce el isómero *cis*-9, *trans*-11. Otros estudios realizados durante el año 2000, identificaron a la $\Delta 9$ desaturasa en el tejido de la glándula mamaria de bovinos, siendo ésta la responsable de la presencia de isómeros del CLA antes mencionados, tanto en la glándula mamaria como en la leche (Tanaka, 2005).

Los estudios actuales, indican la presencia de hasta 20 diferentes isómeros del CLA, siendo el predominante el *cis*-9, *trans*-11, con aproximadamente el 90% del total y es llamado ácido ruménico (House et al., 2005; Bauman y Lock, 2006; Eder y Ringseis, 2010). En la producción y la nutrición animal, se han hecho investigaciones principalmente en bovinos productores de leche (Bauman et al., 2008; Harvatine et al., 2009), ovinos y cabras (Locket et al., 2006).

Como mencionó anteriormente, el CLA fue descubierto desde hace muchos años en los productos y subproductos de estas especies, lo cual ha llevado a determinar los posibles factores que conllevan a la depresión grasa en la leche de vaca (Harvatine et al., 2009). Dicho fenómeno que se presenta debido a diversos factores relacionados a

la nutrición, alimentación y manejo: tipo de ingredientes, uso de semillas que contengan ácidos grasos insaturados, proporción forraje:concentrado, sistema de producción, entre otros (Roca et al., 2009).

Los AGPI como los ω 6 ejemplo de estos el CLA, generan sustancias que modulan la respuesta inflamatoria como resultado del metabolismo de los ácidos grasos, produciendo a las prostaglandinas, los tromboxanos y los leucotrienos, que a su vez son estimuladores del sistema inmune, vasoconstrictores y procoagulantes con importante actividad a nivel cardiovascular (Silveira et al., 2003). El CLA se ha empleado en roedores inducidos a carcinoma mamario. En estos animales se suplementó CLA en el alimento a dosis diferentes, mostrándose un efecto reductor del tumor mamario. También ha sido usado en ratones con neoplasia epidermal presentando de la misma manera efecto inhibitor (Tanaka, 2005). Habiéndose encontrado que el principal isómero con efecto anticarcinogénico es el CLA *cis*-9, *trans*-11. La diabetes es otra enfermedad en humanos en la cual tienen efecto modulador, estimulando receptores para la insulina y protegiendo a las células pancreáticas del daño causado por los radicales libres, sin embargo, entre especies existen diferencias en los resultados entre estudios *in vivo* e *in vitro* (House et al., 2005).

Por otro lado se ha observado que el CLA y otros ácidos grasos poliinsaturados son reguladores negativos de la lipogénesis hepática, esto se ha observado en ratones obesos, reduciéndose la expresión de genes lipogénicos y enzimas que actúan a nivel del hígado, también mejora el metabolismo de carbohidratos y hormonas que modulan la respuesta ante estos compuestos. En humanos este tipo de ácidos grasos reducen la eficacia de depositar la grasa corporal, induciendo genes que involucran la oxidación de ácidos grasos e inhibiendo genes para la síntesis de lípidos; sin embargo aún es necesario continuar en esta línea de investigación (Rodríguez et al., 2005).

Actualmente se pueden encontrar diferentes alimentos, que son denominados "funcionales". Una definición de estos alimentos es que contienen un componente, nutriente o no nutriente, con actividad selectiva relacionada con una o varias funciones del organismo, con un efecto fisiológico añadido por encima de su valor nutricional y cuyas acciones positivas justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o incluso saludable (Silveira et al., 2003). Entre estos alimentos funcionales se incluye al CLA gracias a sus propiedades que ofrece a la salud. Por esta razón en la actualidad el CLA es usado en el humano como suplemento para evitar enfermedades metabólicas, también en la producción animal es empleado principalmente en el

ganado vacuno lechero y sigue utilizándose en estudios de alimentación y metabolismo.

II.VII Ácidos Grasos Esenciales

Existen ácidos grasos que no pueden ser sintetizados en todos los organismos animales entre ellos se encuentra el ácido linoleico, por tal razón debe ser administrado en la dieta, este tipo de AG que no pueden ser sintetizados son denominados ácidos grasos esenciales (Murray et al., 2001; Rodríguez et al., 2005). Los isómeros de CLA están constituidos por una molécula de 18 carbonos con dos dobles enlaces, encontrándose en el carbono 6 del grupo metilo terminal, por ejemplo, la nomenclatura del CLA *trans*-10,*cis*-12 es 18:2 n6, y para el *cis*-9,*trans*-11 es 18:2 n7.

También este tipo de ácidos grasos pueden ser llamados ω 3 y ω 6 esto de acuerdo a la posición del carbono en la que se encuentran sus dobles enlaces. Los animales mamíferos no cuentan con las enzimas que son necesarias para la formación de este tipo de compuestos como lo es la enzima Δ 9 desaturasa, sin embargo en animales rumiantes la excepción es notable debido a que en la glándula mamaria y el tejido adiposo, puede llevarse a cabo la doble ligadura. Entre los animales monogástricos únicamente los conejos parecen tener la capacidad de sintetizar en el ciego y reciclar a través de la cecotrofia cantidades significativas de CLA (de Blas, 2004).

Este tipo de ácidos grasos se encuentran en tejidos vegetales, en animales y algas marinos, y en animales mamíferos como ya se ha mencionado los rumiantes y los conejos pueden sintetizar el CLA; de la fracción de grasa, el CLA ocupa una proporción pequeña; el origen de este AG en los tejidos de los rumiantes ocurre por una bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens* (Gram negativa), encontrada en el rumen que isomeriza al ácido linoleico *cis*-9, *cis*-12 produciendo CLA *cis*-9, *trans*-11 (Fernández et al., 2004; House et al., 2005).

La síntesis de CLA en rumiantes (Figura 6) es ya conocida y cabe mencionarla debido a que probablemente un proceso similar ocurre en el conejo, la mayoría de los ácidos grasos están esterificados, en este caso los forrajes verdes y las semillas oleaginosas contienen ácidos grasos poliinsaturados que son hidrolizados, convirtiéndose en ácidos grasos libres en el rumen o estómago. Los insaturados son isomerizados y se reducen. El resultado es la formación de ácidos grasos saturados y algunos intermediarios de la biohidrogenación que son posteriormente absorbidos. En condiciones de fermentación ruminal se producen principalmente el ácido

vaccénico(C_{18:1} *trans* 11), y el CLA *cis*-9, *trans*-11, aunque no son los únicos isómeros, sino que existe un amplio rango de isómeros que son transportados hacia la glándula mamaria. Sin embargo, la alteración de la fermentación ruminal (exceso de carbohidratos, ingredientes con ácidos grasos poliinsaturados, entre otros) da origen a la formación de otros isómeros como el CLA *trans*-10, *cis*-12 el cual tiene efecto de reducir la síntesis de grasa en la leche.

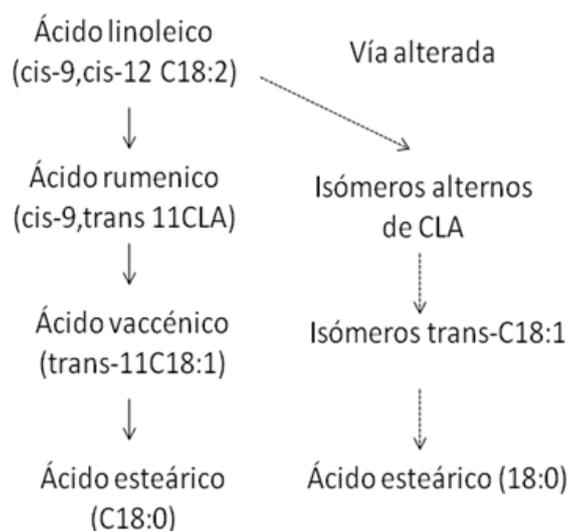


Figura 6. Vía de biohidrogenación del ácido linoleico y ácido linoleico conjugado (CLA) bajo fermentación ruminal normal y alterada (Harvatineet al., 2009).

II. VIII Síntesis de grasa en la leche

Una vez conociendo qué son los ácidos grasos y su origen, es fundamental conocer lo que ocurre en la coneja, el animal utilizado en el presente trabajo. En todos los mamíferos el estado de gestación conlleva en el postparto el comportamiento materno la producción de leche, determinando el crecimiento y supervivencia de los gazapos, debido a que el consumo de nutrimentos durante las primeras semanas de vida proviene únicamente de la alimentación de la leche materna (Gómez et al., 2011).

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, incrementándose la síntesis de ácidos grasos y la actividad de las enzimas involucradas en la síntesis de grasa. La glándula mamaria toma de la circulación el glicerol, la glucosa, el acetato y el β-hidroxibutirato, los dos últimos para la síntesis de ácidos grasos de cadena corta (Harvatineet al., 2009). Por otro lado están presentes

diferentes enzimas para la síntesis de grasa como la glicerol fosfato aciltransferasa, y la diglicerol fosfato aciltransferasa que utilizan el glicerol y glucosa para sintetizar ácidos grasos de 16 a 18 carbonos. El acetato y el β -hidroxibutirato son empleados por la Acetil CoAcarboxilasa y la ácido graso sintetasa. En la coneja se ha observado que el 90% de la síntesis de grasa es de *novo* y también se ha evaluado el perfil de ácidos grasos del tejido mamario, mostrando principalmente ácidos grasos de cadena corta y media de 8 a 12 carbonos (Mellenberger y Bauman, 1974). Aunque la glándula mamaria de la coneja sintetiza ácidos grasos de cadena corta y estos son la principal característica del perfil de los ácidos grasos de su leche, existe una parte del perfil que proviene de dos fuentes adicionales posibles: ácidos grasos provenientes de la dieta y del metabolismo bacteriano del ciego, con un proceso similar al ruminal (Angulo et al., 2009).

II.IX Composición lipídica de la leche y estructura del glóbulo de grasa en la leche.

La composición química de la leche de la coneja ha sido analizada, sin embargo la estructura del glóbulo de grasa no se ha estudiado, por tal motivo se mencionará la composición de los lípidos de la leche y la estructura de la grasa haciendo referencia a la leche de vaca. La leche está formada por grasa que incluye: fosfoglicéridos, esfingolípidos y colesterol, y por pequeñas cantidades de ácidos grasos libres, monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos. Los fosfoglicéridos son los más abundantes y también contiene plasmalógenos. La esfingomielina se encuentra en gran cantidad y de los glucolípidos los cerebrosidos y gangliósidos son los principales constituyentes de la leche. El perfil de los ácidos grasos varía con el tipo de alimento y el tipo de grasa, por ejemplo en los fosfoglicéridos predominan los AG insaturados, y en los triglicéridos, esfingolípidos y glucolípidos predominan los AG saturados.

Los lípidos se encuentran empaquetados dentro de glóbulos grasos, se originan por la síntesis de triglicéridos en el retículo endoplásmico liso después continúan hacia el retículo endoplásmico rugoso formándose en ese sitio el núcleo de glóbulo de grasa compuesto por triglicéridos, conteniendo pequeñas cantidades de colesterol, vitaminas, entre otros; posteriormente son liberados en el citosol de la célula epitelial mamaria, al salir quedan cubiertos por proteínas y lípidos de la membrana reticular formando una capa en la que predominan fosfatidil y lisofosfatidil colina constituyendo el microgotas, en el citosol estas gotas de grasa se unen formando macrogotas o gotas que continúan hacia la parte apical de la membrana de la célula epitelial (Angulo et al., 2009).

En el mecanismo de secreción de las gotas de grasa existen dos teorías. La primera considera que las gotas secretadas están envueltas en parte de la membrana plasmática de la célula epitelial para dar lugar a la formación del glóbulo de grasa de la leche, esta incluye proteínas de membrana de la célula epitelial que ayudan a la secreción del glóbulo de grasa, entre estas se encuentran las mucinas MUC1 y MUC 15, la enzima redoxoxantinaoxidorreductasa, las proteínas integrales CD36 y butirofilin, y la proteína de unión a lípidos adipofilin (Figura 7) (Angulo et al., 2009; Harvatineet al., 2009). La segunda teoría se refiere a vesículas de secreción.

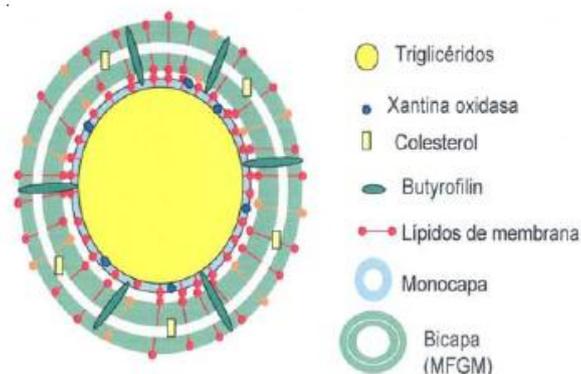


Figura 7. Estructura general del glóbulo de grasa de la leche (Angulo et al., 2009).

En la Figura 8, se muestra la forma en que se sintetizan los ácidos grasos de la leche indicándose los precursores de ácidos grasos tomados de la circulación sanguínea, así como las enzimas que intervienen en este proceso y los productos resultantes. Las enzimas se muestran en óvalos: lipoprotein lipasa (LPL); esteroil-CoA desaturasa (SCD); proteína transportadora de ácido graso (FATP); transportadores de glucosa (GLUT); glicerol fosfato aciltransferasa (GPAT); diacilglicerolaciltransferasa (DGAT); lipin (LPIN); proteína de unión de ácidos grasos (FABP); acetil-CoA carboxilasa (ACC); ácido graso sintetasa (FASN); mucina 1 (MUC1); butirofilin (BTN1A1); xantinaoxidorreductasa (XO); adipofilin (ADPH). ácido graso (FA); ácido graso insaturado (UFA); ácido graso saturado (SFA); lipoproteína de muy baja densidad (VLDL); triglicéridos (TAG) y β -hidroxibutirato (β HBA) (Harvatineet al., 2009).

II.X La regulación de la síntesis de lípidos

La regulación de la síntesis de lípidos involucra receptores celulares presentes en la membrana del retículo endoplásmico y del núcleo, en los cuales se presentan interacciones entre un nutriente que se comporta como factor de transcripción que

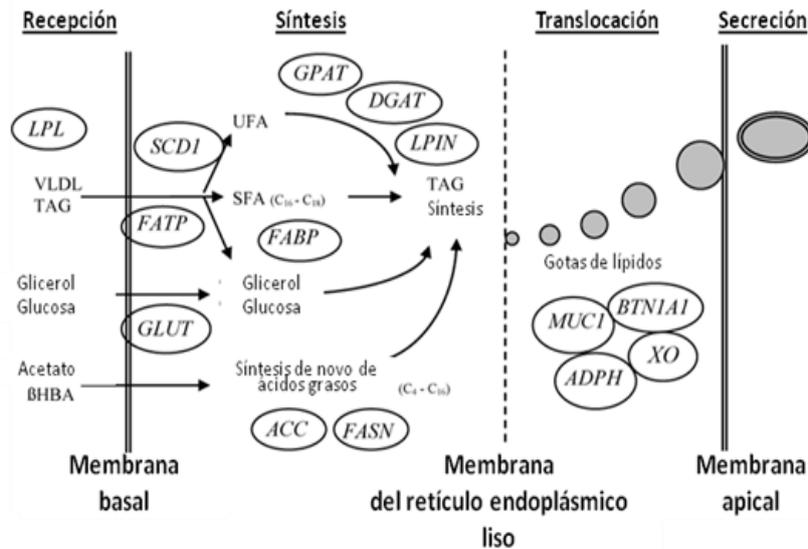


Figura 8. Diagrama de vías y actividades coordinadas durante la síntesis y secreción de la grasa de la leche.

modifica la expresión génica. En este caso los ácidos grasos de la dieta especialmente los poliinsaturados pueden modificar o disminuir la disponibilidad de receptores (Silveira et al., 2007).

La regulación de la síntesis de lípidos ocurre por mecanismos moleculares, esto ha sido observado en bovinos durante el fenómeno que se denomina depresión grasa de la leche (Harvatine y Bauman, 2006), aunque aún no se sabe la manera en la que se inhibe la síntesis de la grasa de la leche, se ha propuesto que los receptores SREBP (SREBPs; por sus siglas en inglés Sterol-Regulatory-ElementBindingProteins) son los involucrados. Estas proteínas de unión al elemento de respuesta a esteroides son una familia de factores de transcripción que coordinan el metabolismo lipídico del organismo (Rodríguez et al., 2005; Anderson et al., 2007). Los receptores tienen una estructura que actúa como un sensor de esteroides, es decir la transcripción de receptores de las lipoproteínas de baja densidad y los ácidos grasos son controlados por los SREBPs. Existen dos genes que codifican para tres diferentes isoformas, SREBP-1a, SREBP-1c/ADDI y SREBP-2. En el hígado la forma predominante es SREBP-2 y SREBP-1c/ADDI, las cuales preferencialmente regulan genes involucrados en biosíntesis y síntesis de ácidos grasos respectivamente; también se ha encontrado en tejido adiposo y músculo de roedores. El SREBP-1a activa todas las respuestas de los genes SREBP, que permiten la transcripción de más de 30 genes necesarios para la asimilación y síntesis de colesterol, ácidos grasos, triglicéridos y

fosfolípidos, esta proteína se ha encontrado principalmente en líneas celulares y tejidos con alta capacidad de proliferación como bazo o intestino (Vernia, 2007).

El SREBP-2 regula la expresión de las enzimas que participan en la biosíntesis de ácidos grasos, colesterol y lipoproteínas de baja densidad. Por otro lado el SREBP-1c estimula la transcripción de genes que se requieren para la síntesis de ácidos grasos, la participación de Acetil-CoAcarboxilasa y ácido graso sintetasa para promover la esterificación y almacenamiento de lípidos. Los factores que pueden incrementar la expresión del mRNA SREBP-1c en el hígado es la insulina, sin embargo los ácidos grasos poliinsaturados inhiben la expresión de este gen antagonizando la actividad de síntesis de ácidos grasos (Espenshade, 2006). En línea celular de tejido mamario bovino (MAC-T) el *trans*-10,*cis*-12 no reduce la expresión del SREBP-1 mRNA pero existe una reducción de la lipogénesis y concentración del gen mRNA por inhibición del SREBP-1 (House et al., 2005).

La activación del SREBP-1 ha sido sugerida pero aún es incierta (Harvatine y Bauman, 2006) durante este proceso, se forma un complejo del SREBP1c con la proteína SCAP (SREBP chaperoneprotein) anclada al retículo endoplásmico a través de la asociación con otra proteína INSIG (insulineinduced gene INSIG 1, INSIG 2). El SREBP es activado por la disociación de INSIG del complejo SREBP/SCAP permitiendo la translocación hacia el aparato de Golgi donde ocurre una proteólisis, la cual se adhiere al SREBP1 nuclear (nSREBP1) el fragmento activo para la transcripción. El nSREBP1 del núcleo se une al SRE elemento regulador de esterol, a este nivel se activan co-activadores que estimulan la transcripción de genes involucrados en la síntesis de lípidos. Sin embargo la activación de los SREBPs por la disponibilidad de los ácidos grasos poliinsaturados no está bien establecido en sus pasos iniciales. En investigaciones *in vitro* se ha observado que disminuye la abundancia de nSREBP sin embargo en experimentación *in vivo* se redujo la expresión de SREBP1 determinando que SREBP1 aporta un índice de abundancia de nSREBP (Harvatine y Bauman, 2006). Hasta el momento únicamente en animales bovinos y roedores se han llevado a cabo estudios acerca de los mecanismos nucleares que modulan la síntesis de ácidos grasos, por lo que resultaría interesante continuar este tipo de estudios en los conejos para conocer si los receptores hasta el momento conocidos, están influenciando la síntesis de lípidos de la misma manera.

II.XI Características del aparato digestivo de los conejos

Los conejos pertenecen a la familia de los mamíferos lagomorfos, los cuales presentan características anatómicas y fisiológicas que los diferencian notablemente de otras especies por su aparato digestivo (Figura 9), que como los demás mamíferos presenta los siguientes órganos: estomago con un pH de 1 a 5 y con una capacidad del 34% del total del sistema digestivo. El intestino delgado con 3 m de longitud, en esta sección ocurren la secreción de bilis y enzimas digestivas, y presenta pH 7. El intestino grueso integrado por el colon y el ciego, el colon se encuentra dividido en dos partes, el colon proximal que mide 35 cm de longitud y el colon distal con una longitud de 80 a 100 cm. La parte proximal esta dividida en 3 segmentos. El ciego tiene una capacidad del 49% del total del aparato digestivo, presentando una intensa actividad de fermentación de la microflora encontrada en el sitio produciéndose ácidos grasos volátiles de los cuales se producen del 60 a 80% acetato, 8 a 20% butirato y del 3 a 10% propionato (Lebas, 1978).

Entre las características fisiológicas de los conejos está la formación de heces las cuales son excretadas de acuerdo al ritmo circadiano principalmente durante el periodo de luz, en el cual solo excretan heces suaves y las heces duras son eliminadas durante la noche; este patrón puede verse alterado por la edad de los conejos, estado fisiológico y acceso de alimento.

En el ciego la población microbiana está integrada principalmente por los géneros *Bacteroides* con una población de 10^9 a 10^{10} /g, también se puede encontrar a *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Streptococcus* y *Enterobacter*, esta población completa presenta aproximadamente en total de 10^{10} a 10^{12} /g. Las principales actividades de las bacterias en relación a los sustratos usados son: las recicladoras de amonio, ureolíticas, proteolíticas y celulolíticas. Entre las celulolíticas las más importantes son la xilanolíticas y pectinolíticas estas poblaciones representan 10^8 y 10^9 /g respectivamente. La microflora cambia con la edad, en la primera semana de edad se puede encontrar *Bacteroides*, a los 15 días las bacterias amilolíticas se establecen, los colibacilos disminuyen y las celulolíticas se incrementan. Debido a la modificación de la microflora los ácidos grasos volátiles también son modificados, esto indica que la flora cecal se encuentra en constante modificación durante la vida del animal (De Blas y Wiseman, 1998)

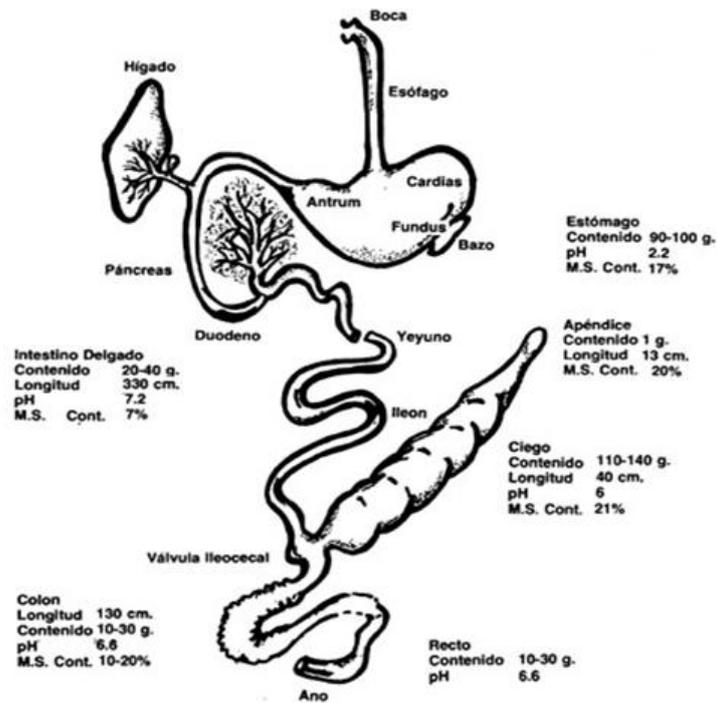


Figura 9. Sistema digestivo de Conejo (Gidenne y Lebas, 2005).

Con respecto a estudios relacionados con el CLA en conejos, existen algunos sobre el empleo del CLA en la alimentación de conejos de engorda, donde se ha evaluado el efecto de diferentes dosis de CLA sobre la calidad de la carne y del colágeno intramuscular, habiéndose observado que el CLA redujo significativamente la grasa y el colágeno de la carne del lomo y del costado de los conejos de los 56 a los 104 días de vida (Corino et al., 2003). Asimismo, se ha demostrado que la inclusión de aceite de soya enriquecido con CLA en el alimento de conejos de engorda de los 60 a los 81 días de edad, resulta en una buena transferencia del CLA en la grasa intramuscular sin detrimento en el comportamiento productivo de los conejos (Petacchiet al., 2005).

III. HIPÓTESIS.

- ⊙ La administración de CLA modificará la composición química, así como el perfil de los ácidos grasos del coágulo de la leche de coneja.

IV. OBJETIVOS.

IV.I OBJETIVO GENERAL.

- ⊙ Conocer el efecto de la administración de diferentes niveles de CLA sobre la composición química y el perfil de los ácidos grasos del coágulo de leche.

IV.II Objetivos particulares

- Determinar los cambios en la producción de leche de las conejas recibiendo diferentes niveles de CLA del día 5 al 12 postparto.
- Determinar si la suplementación de CLA afecta la composición química de la leche y el perfil de los ácidos grasos de su grasa.
- Conocer si la suplementación de CLA a las madres afecta el crecimiento de sus gazapos.
- Conocer si la suplementación de CLA afecta el consumo de alimento y el peso corporal de las madres durante los primeros 12 días postparto.

V. METODOLOGÍA

V.I Localización del estudio

El trabajo experimental con los animales se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma de Querétaro en los campus Amazcala y Juriquilla. En el Laboratorio de Nutrición Animal en el Campus Juriquilla se procesaron las muestras del coágulo de leche obtenidas y se llevaron a cabo los análisis de su composición química. En el Departamento de Animal Science en el laboratorio de Nutritional Physiology de PennStateUniversity en StateCollege se determinó el perfil de los ácidos grasos del coágulo de leche de coneja.

V.II Animales experimentales

Se emplearon 39 conejas de la raza Nueva Zelanda de 6 meses de edad y de segundo parto. A su llegada a las instalaciones del campus Amazcala se pesaron y se alojaron en jaulas individuales de crianza con nido, comedero de tolva y bebedero automático (Figura 10). Los animales fueron alimentados a libertad registrándose el

consumo diario individual. Las conejas fueron sincronizadas con **Foligon®** (gonadotropina sérica de yegua preñada, una sola dosis de 40 UI). Cuarenta y ocho horas después se expusieron a los machos, recibiendo monta directa de los machos. Al parto se estandarizó a seis el número de gazapos por coneja.



Figura 10. Jaula de reproductoras con área para la coneja y nido para las crías.

V.III Alimentación

Los animales recibieron un alimento comercial (Conejos reproductores de Malta Cleyton®) el cual contenía 88% de materia seca y 17% de proteína cruda. La composición química se presenta en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Composición química del alimento de conejos reproductores.

COMPOSICIÓN QUÍMICA	
Materia seca (%) ¹	88
Proteína cruda (%) ¹	17.3
Fibra detergente neutro (%) ²	46.2
Fibra detergente ácido (%) ²	11.6
Energía bruta cal/kg	4 300

¹ Métodos de análisis de la AOAC, 1990.

² Determinación de fibra de Robertson y Van Soest, 1981.

V.IV Tratamientos

Los animales se distribuyeron entre los cuatro tratamientos conforme a un diseño por bloques al azar, definiéndose el bloque por la fecha de parto de los animales. En total estudio contó con dos bloques, cada uno con 20 animales. Los tratamientos experimentales evaluados fueron: 1) grupo control, infusión de 1 ml de agua; 2) infusión de 155.2 mg de CLA/kg peso metabólico (PM), 3) infusión de 310.4 mg CLA/kg PM y 4) infusión de 620.8 mg CLA/kg PM. Estas dosis se basaron en la dosis de CLA que se emplea en bovinos, de 10 g/d kg⁻¹ de PM. Se tomó como peso de partida el peso al parto de los animales. La dosis de CLA se administró vía oral en dos partes desde el día 5 hasta el día 12 postparto (Figura 10). El aceite de CLA empleado fue Clarinol G-80 (80% CLA, 50% *cis*-9,*trans*-11:*trans*-10,*cis*-12 LipidNutrition, B.V.), empleándose jeringas de 1 ml sin aguja para dosificarlo. El aceite se mantuvo todo el tiempo bajo refrigeración en frasco ámbar cubierto con papel aluminio.

En la Figura 11 se describe el período experimental incluyendo los días en que se administró el CLA así como el momento del sacrificio de los gazapos.



Figura 11. Cronograma de experimentación, de acuerdo a los días postparto de las conejas, indicando el periodo de inicio de la administración del CLA y el día de sacrificio de las crías.

V.V Estimación de la producción de leche

La producción de leche de las conejas se estimó desde el día dos hasta el 13 posparto mediante el pesaje de las camadas antes y después del amamantamiento. A partir del día 2 posparto, diariamente a la media noche se cerró la trampilla que separa el nido de la madre para evitar que la madre estuviera con los gazapos. A las 08:00 se pesaban a los gazapos, se regresaban al nido, se abría la trampilla permitiéndose que la madre pudiera entrar a alimentarlos. Aproximadamente 5 minutos después, la madre salía del nido y se volvían a pesar a los gazapos. La diferencia de peso de la

camada representó la producción de leche. Este manejo lo permitió el hecho de que las conejas tienen el hábito de alimentar a sus crías solamente una vez al día.

V.VI Obtención de muestras de coágulo de leche

El día 13 posparto, se pesaron nuevamente las conejas y sus crías, para posteriormente obtener el coágulo de leche del estómago de las crías. Los 6 gazapos de cada coneja fueron sacrificados por inhalación de CO₂ y degüello. Se extrajo el coágulo de leche del estómago, colocándolo en tubos falcon de 14 ml y congelados a menos 2°C, permaneciendo bajo estas condiciones hasta el momento de ser utilizados para los análisis químicos correspondientes.

V.VII Análisis químicos

El coágulo del estómago de los gazapos fue liofilizada (Freezedrysystem, free zone® 6 literbenchttop LABCONCO modelo 77520) por 72 h. Posteriormente se limpiaron de pelo y otras impurezas. A estas muestras se les determinó su contenido de materia seca, la materia orgánica, extracto etéreo y energía bruta de acuerdo a los métodos descritos por la AOAC (1990). Los lípidos fueron extraídos y metilados de acuerdo a Christie (1982) con modificaciones de Chouinard et al (1999) posteriormente los ésteres metilados fueron cuantificados por cromatografía de gases (GC system 6890A con detector de flama de ionización Agilent) usando una columna capilar (CP-Sil 88;100m X 0.25mm (i.d.); Varian Inc., Walnut Creek, CA) y realizando los procedimientos descritos por Locket al (2004).

VI. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza para un diseño por bloques al azar (Cochran y Cox, 1990) empleando el modelo matemático:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ijk}$$

donde:

y_{ijk} = variables de respuesta

μ = media de la población

τ_i = efecto del tratamiento

β_j = efecto del bloque

ε_{ijk} = error experimental

Se utilizaron los procedimientos PROC GLM y LSMEANS del paquete estadístico SAS (2001).

Las variables de respuesta evaluadas fueron:

1. Consumo de alimento de las madres.
2. Cambio de peso de las madres
3. Peso de las camadas.
4. Producción de leche.
5. Composición química del coágulo de leche.
6. Perfil de los ácidos grasos del coágulo de leche.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio se diseñó con el objeto de conocer los cambios que provoca el CLA en la composición química y el perfil de los ácidos grasos de la grasa del coágulo de la leche de conejas cuando se les suministra oralmente durante la segunda semana de lactancia. Asimismo, se evaluaron los cambios en la cantidad de leche producida por las conejas, evidenciada a través del cambio de peso de sus gazapos.

El peso corporal, el consumo de alimento y la producción de leche de las madres se muestran en el Cuadro 3. Ninguno de los 3 niveles de CLA suplementados afectó estos parámetros ($P > 0.1$). El peso corporal promedio de las conejas al parto fue de 3.8 ± 0.1 kg y a los 12 días de lactancia de 3.9 ± 0.1 kg, lo cual concuerda con resultados de otros estudios empleando roedores y humanos donde el CLA ha demostrado no afectar el peso corporal (Houseet al., 2005). El peso corporal es un indicador del balance energético de los animales, en la mayoría de las especies el peso corporal se reduce durante las primeras semanas postparto. Por ejemplo, el elefante marino pierde alrededor del 42% de su peso durante la lactancia (Riedman y Ortiz, 1979); la vaca lechera llega a perder entre el 8 y el 10% de su peso con el inicio de la lactancia y se mantiene en balance de energía negativo durante las primeras 10 a 12 semanas postparto y aunque el consumo de alimento se incrementa semana a semana no alcanza a cubrir la demanda de materia seca impuesta por la producción de leche (Drakleyet al., 2001). En otras especies que tienen más de una cría como la cerda, la pérdida de peso es menor al 8 % y el consumo de alimento se incrementa conforme aumenta el número de crías (Cuarónet al., 2007).

En el presente estudio, el peso corporal de las conejas no fue diferente entre el peso al parto y a los 12 días postparto. Aunque no se evaluó diariamente se puede decir que no perdieron peso y que el consumo de alimento durante ese periodo fue suficiente para cubrir la energía de mantenimiento y lactación. Se hubiera esperado que la suplementación del CLA aportara energía extra a las madres y los animales tratados ganaran peso respecto al grupo control, lo cual no sucedió. En el ganado lechero la suplementación de CLA durante el inicio de la lactancia tampoco se ha reflejado en mejores ganancias de peso, ni en una mayor producción de leche sin detrimento del balance energético de las vacas (Bernal et al., 2003; De Vethet al., 2004; Castañeda et al., 2005).

Cuadro 3. Parámetros productivos de conejas recibiendo diferentes niveles de CLA durante las primeras 2 semanas posparto.

Parámetro ¹	Nivel de CLA. mg/kg PM ²			
	0	155	310	620
Número de conejas	9	10	10	10
Peso de las madres, kg				
Al parto	3.8	3.8 ± 0.1	3.9 ± 0.1	3.7 ± 0.1
Al día 13 posparto	3.9 ± 0.1	4.0 ± 0.1	3.9 ± 0.1	4.0 ± 0.1
Producción de leche ³ g/d	127.9 ± 10.4	125.9 ± 9.8	138.5 ± 9.8	125.6 ± 9.9
Consumo de alimento g/d	303.7 ± 10.6	312.8 ± 10.0	296.7 ± 10.0	282.6 ± 10.1
Número de gazapos por camada	5.1	6	5.8	5.8
Peso de los gazapos, g				
Peso individual	184.8 ± 9.5	191.6 ± 9.0	183.2 ± 9.0	172.7 ± 9.0
Peso Camada ⁴	1444.6 ± 79.3	1564.5 ± 75.1	1474.0 ± 75.1	1396.1 ± 75.5

¹ No se observaron diferencias ($P > 0.1$). Los valores representan la media mínima cuadrada ± error estándar.

² PM= peso metabólico.

³ Calculada por diferencia de peso de las camadas antes y después del amamantamiento.

⁴ Ajustada a 6 animales pero hubo camadas que perdieron 1 gazapo en el proceso.

El consumo de alimento de las conejas tuvo un promedio general de 298.9 ± 10.1 g/d, no habiéndose modificado con el nivel de CLA. En cerdas lactantes suplementadas con CLA se ha visto un efecto similar, no viéndose modificado el consumo voluntario (Bontempoet al., 2004). En algunas investigaciones realizadas en monos con AG de cadena larga en el alimento pudieran inhibir el consumo, dando origen a una hipótesis acerca de que los AG de cadena larga pudieran regular el apetito, en el hipotálamo (Aguilera et al., 2006). Sin embargo se ha visto que los AG no atraviesan la barrera hematoencefálica para alcanzar el hipotálamo (Koeppen y Stanton, 2009).

La producción individual promedio de leche fue de 129.4 ± 9.9 g/d, sin verse afectada por los niveles de CLA suministrados. Durante el postparto, la producción de leche es la actividad más importante de la madre porque es el único alimento que consumen los gazapos durante las primeras tres semanas de vida. Además, la producción de leche y el subsecuente consumo por parte de los gazapos permite su crecimiento y sobrevivencia. En la Figura 12 se muestra la producción de leche a través de los 11 días en que se administró el CLA, donde se aprecia que el patrón en el incremento en la producción a través de los 12 días posparto es similar entre los cuatro grupos. La producción de leche en los mamíferos está influenciada por diferentes factores, entre los que se encuentran los genéticos, del medioambiente y los nutricionales (Glass et al., 1971; Swenson, 1984). En bovinos de leche, así como en cabras la suplementación del CLA no ha incrementado la producción (Harvatine y Bauman, 2006), pero en ovejas lecheras si se han encontrado incrementos de 140 g/d (Lockett al., 2006). De manera semejante, De Vethet al. (2004) evaluaron vacas durante el

periparto en las que la producción de leche no se incrementó, pero si mejoraron su balance energético.

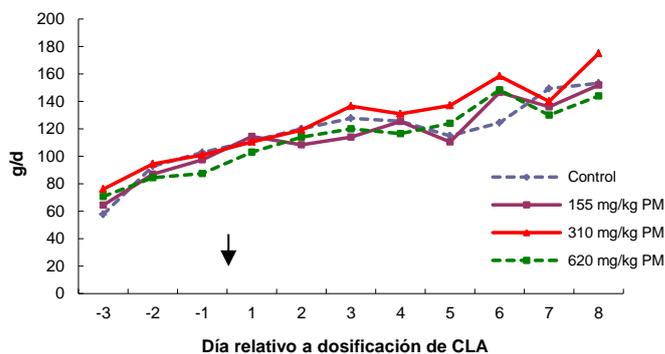


Figura 12. Producción de leche de conejas durante los primeros 11 días postparto recibiendo diferentes niveles de CLA. La flecha representa el inicio de la dosificación de CLA.

El peso de la camada y el peso individual de los gazapos se muestran en el Cuadro 3. Estos pesos fueron la base para estimar la producción de leche de la madre. Cada camada fue estandarizada a 6 gazapos por coneja, ya que la producción está influenciada por la succión de las crías y el número de animales (Maertens et al., 2006; Gómez et al., 2011). Ninguno de estos parámetros fue diferente entre tratamientos ($P > 0.1$) con promedios de peso de la camada de 1469.359 ± 73.41 g y el peso individual de 183 ± 27 g. Cabe mencionar que aunque se estandarizaron las camadas a 6 animales, algunos gazapos murieron durante el periodo experimental quedando algunas camadas de cinco gazapos (Cuadro 3). En la Figura 13 se muestra el patrón de crecimiento de los animales durante todo el periodo experimental.

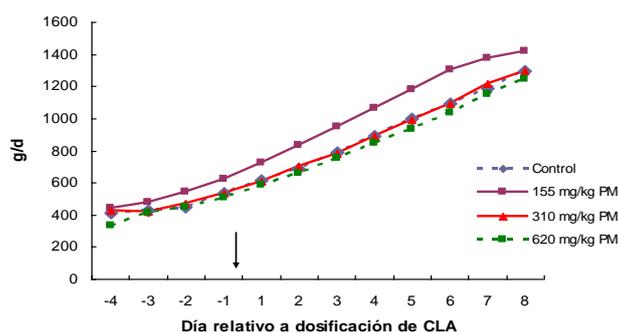


Figura 13. Cambio de peso de las camadas de conejas Nueva Zelanda recibiendo diferentes niveles de CLA durante los primeros 12 días postparto. La flecha representa el inicio de la dosificación de CLA.

La composición química de la leche fue determinada en el coágulo de leche obtenido del estómago de los gazapos. Este coágulo se forma por la actividad de la pepsina, la

cual solamente modifica los enlaces adyacentes de los aminoácidos aromáticos que contiene la caseína. Además, la lipasa gástrica rompe los enlaces éster de los triglicéridos de la leche dejando libres a los ácidos grasos (Ganong, 1992). La composición química se presenta en el Cuadro 4, no habiéndose encontrado diferencias estadísticas entre los tratamientos ($P>0.1$), siendo el promedio de materia seca $87.3\pm 0.7\%$, de cenizas $5.8\pm 0.1\%$, de proteína cruda $34.6\pm 0.6\%$, de extracto etéreo $36.6\pm 1.3\%$ y de energía bruta de 6890.6 ± 101.5 cal/g. Los valores de proteína y extracto etéreo son similares a los publicados por Gómez et al (2011) en conejas híbridas, presentando valores de proteína de 12.3% y de extracto etéreo de 12.9% . Estos parámetros nutritivos son primordiales para determinar el crecimiento de los gazapos desde el nacimiento hasta el destete (generalmente a los 30 días de nacidos).

La energía bruta del coágulo de leche no fue diferente entre tratamientos ($P >0.1$), con una media de 6890.6 ± 101.5 cal/g.. Se esperaba que la energía suplementada a través del CLA se hubiera visto reflejada en la energía bruta, lo cual no fue así y probablemente por lo mismo tampoco se vio reflejada en una mayor producción de leche ni en el crecimiento de los gazapos. Estudios realizados en vacas lecheras se ha analizado además la energía neta durante las primeras 20 semanas de lactancia y tampoco se vio un efecto directo del CLA sobre esta variable (Bernal et al., 2003).

Cuadro 4. Composición química del coágulo de leche de coneja recibiendo diferentes niveles de CLA indicándose media y desviación estándar.

Parámetro ¹	Nivel de CLA. mg/kg PM ²			
	0	155	310	620
Materia seca (MS) %	85.9±0.7	87.9±0.7	87.6±0.7	88.0±0.7
Cenizas%	5.6±0.1	5.8±0.1	6.0±0.1	5.8±0.1
Extracto etéreo %	37.2±1.3	34.8±1.3	38.5±1.3	36.2±1.3
Proteína cruda %	35.0±0.7	34.0±0.6	35.0±0.6	34.5±0.6
Energía bruta cal/g	6747.7±105.6	6944.9±100.0	6844.9±100.0	7025.1±100.5

¹ No se observaron diferencias $P>0.1$. Los valores representan la media mínima cuadrada \pm error estándar.

² PM= peso metabólico.

La cantidad de ácidos grasos totales del coágulo de leche de las conejas fue similar entre tratamientos ($P>0.1$), con una media de $39.77\pm 1.1\%$ (Cuadro 5), lo cual es diferente a lo que sucede en la vaca lechera, donde incrementos de CLA en la dieta llegan a deprimir el total de los ácidos grasos de la leche en un 6 a 14% (Castañeda et al., 2007), o en la cabra del 3 a 19 % (Locket al., 2008).

En el Cuadro 5 se muestra el perfil de los AG del coágulo de leche de las conejas, habiéndose encontrado AG tanto saturados como insaturados, de cadena corta,

mediana y larga. Los AG de cadena corta que se encontraron fueron del tipo saturado caprílico (C_{8:0}) y cáprico (C_{10:0}), mientras que en los de cadena mediana hubieron saturados e insaturados (C_{12:0}) mirístico (C_{14:0}), mirístoleico (C_{14:1}) y pentadecílico (C_{15:0}). Sin embargo se encontraron diferencias estadísticas en varios de los AG de cadena larga, donde su concentración disminuyó significativamente conforme se incrementó el nivel de CLA: palmítico (C_{16:0}), oleico (C_{18:1 cis9}), eicosanoico ω6 (C_{20:2}), docosapentanoico (C_{22:5}), y solamente el ácido araquídico (C_{20:0}), se incrementó significativamente con el aumento de la dosis del CLA.

Por otro lado, los isómeros del CLA C_{18:2 cis-9}, *trans*-11 y C_{18:2 trans-10}, *cis*-12 aparecieron en el coágulo de leche en cantidades importantes conforme se incremento la dosis de CLA (P<0.0001), siendo las medias (0.852±0.2%, 0.998±0.2%), (1.471±0.2%, 1.784±0.2) y (2.939±0.1%, 3.505±0.2%) respectivamente para las dosis 155, a 310 y a 620 mg/kg PM. Estos dos isómeros también fueron detectados en cantidades muy pequeñas en el tratamiento control con 0.131±0.2 y 0.150±0.2 %. Asimismo, los dos isómeros fueron detectados en baja proporción en la leche de coneja por Maertenset al (2006).

El hallazgo del CLA en la leche y el coágulo de leche de coneja, tanto por Maertenset al(2006) como en el presente estudio, resulta interesante porque es posible que existan en el ciego del conejo mecanismos similares a los de las bacterias que se encuentran en el rumen, las cuales pudieran permitir la generación de isómeros de los ácidos grasos que sirvan como precursores de la síntesis del CLA. Esos precursores podrían estar llegando a la glándula mamaria de la coneja gracias a la cecotrofia, donde probablemente exista una enzima Δ desaturasa que permita la formación de los isómeros del CLA *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12. Sin embargo hasta el momento no se conoce el sitio y tampoco se han investigado a las enzimas que dan origen a los ácidos grasos como el CLA en la leche de la coneja. Como se mencionó anteriormente, la síntesis *de novo* es la vía por la cual las conejas, sintetizan alrededor del 90% de la grasa de su leche (Mellenberger y Bauman, 1974), a diferencia de otras especies donde esta vía es de menor importancia predominando la síntesis de grasa a partir de los ácidos grasos preformados presentes en la circulación. Esta característica representa una oportunidad para poder contribuir al conocimiento de los mecanismos por los cuales el CLA deprime la síntesis de grasa, ya que una de las teorías es que el

Cuadro 5. Perfil de los ácidos grasos del coágulo de leche de coneja recibiendo diferentes niveles de CLA, se indica media y error estándar.

Parámetro% ¹	Nivel de CLA. mg/kg PM ²			
	0	155	310	620
Número de conejas	9	10	10	10
Ácidos Grasos Totales	38.442 ± 1.1	39.376 ± 1.1	40.346 ± 1.1	40.928 ± 1.1
Caprílico C _{8:0}	4.874 ± 0.7	7.102 ± 0.6	7.522 ± 0.6	5.650 ± 0.6
Cáprico C _{10:0}	13.645 ± 1.0	14.651 ± 0.8	14.766 ± 0.8	12.430 ± 0.8
Laurico C _{12:0}	2.473 ± 0.1	2.757 ± 0.1	2.522 ± 0.1	2.304 ± 0.1
Mirístico C _{14:0}	1.858 ± 0.1	1.684 ± 0.1	1.451 ± 0.1	1.478 ± 0.1
Miristoléico C _{14:1}	0.044 ± 0.0	0.041 ± 0.0	0.041 ± 0.0	0.045 ± 0.0
Pentadecílico C _{15:0}	0.431 ± 0.0	0.370 ± 0.0	0.373 ± 0.0	0.404 ± 0.0
Palmítico C _{16:0}	18.005 ± 0.8 ^a	15.807 ± 0.7 ^b	14.889 ± 0.7 ^b	15.164 ± 0.7 ^b
Palmitoleico C _{16:1}	1.400 ± 0.1	1.209 ± 0.1	1.193 ± 0.1	0.241 ± 0.1
Margárico C _{17:0}	0.387 ± 0.0	0.354 ± 0.0	0.359 ± 0.0	0.393 ± 0.0
Esteárico C _{18:0}	3.861 ± 0.2	3.952 ± 0.1	4.075 ± 0.1	4.380 ± 0.1
Oléico _{cis} 9 C _{18:1}	20.995 ± 0.5 ^a	19.637 ± 0.4 ^b	18.865 ± 0.5 ^b	19.543 ± 0.4 ^b
Oléico _{cis} 11 C _{18:1}	1.451 ± 0.0	1.448 ± 0.0	1.358 ± 0.0	1.423 ± 0.0
Linoéico C _{18:2}	23.700 ± 0.7	23.689 ± 0.6	23.896 ± 0.6	22.843 ± 0.6
Araquídico C _{20:0}	0.126 ± 0.0 ^h	0.128 ± 0.0 ^h	0.137 ± 0.0 ^h	0.157 ± 0.0 ^g
Eicosanoíco C _{20:2}	0.092 ± 0.0 ^e	0.061 ± 0.0 ^f	0.055 ± 0.0 ^f	0.050 ± 0.0 ^f
Linoléico α C _{18:3}	2.301 ± 0.1	2.382 ± 0.1	2.396 ± 0.1	2.27 ± 0.1
Linoléico γ C _{18:3}	0.215 ± 0.0	0.213 ± 0.0	0.198 ± 0.0	0.212 ± 0.0
CLA <i>cis</i> - 9, <i>trans</i> -11 C _{18:2}	0.131 ± 0.2 ^l	0.852 ± 0.2 ^k	1.471 ± 0.2 ^j	2.939 ± 0.1 ⁱ
CLA <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12 C _{18:2}	0.150 ± 0.2 ^l	0.998 ± 0.2 ^k	1.784 ± 0.2 ^j	3.505 ± 0.2 ⁱ
homo- γ -linoléico C _{20:3}	0.085 ± 0.0	0.077 ± 0.0	0.074 ± 0.0	0.079 ± 0.0
Eicosapropanoico C _{20:4}	0.250 ± 0.0	0.207 ± 0.0	0.211 ± 0.0	0.189 ± 0.0
Adrénico C _{22:4}	0.080 ± 0.0	0.067 ± 0.0	0.067 ± 0.0	0.063 ± 0.0
Docosapentanoico C _{22:5}	0.050 ± 0.0 ^a	0.025 ± 0.0 ^b	0.017 ± 0.0 ^b	0.017 ± 0.0 ^b
Desconocidos Otros	2.380 ± 0.2 ^d	2.297 ± 0.2 ^d	2.285 ± 0.2 ^d	3.196 ± 0.2 ^c

¹ Los valores representan la media mínima cuadrada \pm error estándar. Valores con distinta literal presentaron diferencias: ^{ab}(P<0.03), ^{cd}(P<0.02), ^{ef}(P<0.01), ^{gh}(P<0.0005,0.01), ^{gh}(P<0.0005), ^{ijkl}(P<0.0001).

² PM= peso metabólico.

CLA está involucrado en la regulación de la expresión de genes clave en la lipogénesis de la glándula mamaria, así como de factores de transcripción del grupo de los SREBP, tales como el SREBP-1c (House, 2005; Rodríguez, 2005; Harvatine y Bauman, 2006; Bauman et al., 2008).

La síntesis de AG puede ser modificada principalmente por la inhibición de los complejos enzimáticos involucrados, los cuales pueden ser deprimidos por el CLA, principalmente a nivel de la síntesis *de novo* (Linet et al., 2004). En bovinos productores de leche cuando son suplementados con CLA, se ha encontrado que se inhiben a las enzimas: Acetil-CoA carboxilasa y la sintetasa de los ácidos grasos, pero se activan: la

lipoproteína lipasa y la acil-CoA, éstas últimas dos involucradas en los procesos de toma y elongación de los ácidos grasos circulantes utilizados por la glándula mamaria. Por lo tanto, los principales AG que se vieron disminuidos en el coágulo de leche de la coneja, como se mencionó anteriormente, fueron el palmítico ($C_{16:0}$), el oleico ($C_{18:1}$ *cis*9), el eicosanoico ($C_{20:2}$) y el docosapentanoico ($C_{22:5}$).

El perfil de los AG ha sido un parámetro en el que han trabajado diferentes investigadores debido a que la grasa es el componente más importante para la comercialización de productos y subproductos de la leche; también puede modificarse a través de la dieta y, el empleo de suplementos y aditivos (Bauman et al., 2008). La composición química de los alimentos juega un papel importante para conocer el aporte de nutrimentos que son ofrecidos en la dieta. Durante las décadas de los años 60's y 70's del siglo pasado, surgió el interés de conocer la composición de la leche de diferentes especies, realizándose diversos estudios acerca de la composición de los AG de la leche de diferentes especies animales incluidas entre ellas la de coneja. Resultados elementales acerca de los mecanismos de la síntesis y la composición de la leche fueron publicados (Glass et al., 1967; Cowie, 1969; Hall, 1970; Strong et al., 1972; Strong y Dils, 1972a; Strong y Dils, 1972b; Mellenberger y Bauman, 1974). No obstante, a pesar de que los resultados son fundamentales y descriptivos, han quedado rezagados en cuestión de técnicas de laboratorio, principalmente aquellos para determinar el perfil de los AG. En la actualidad, habiéndose reconocido la importancia biológica de los diferentes tipos de AG presentes en los alimentos para el humano, hace que se desarrollen técnicas más sensibles que permitan conocer la composición de los AG que se incluyen en la dieta y el momento en que es más oportuna su inclusión.

En el Cuadro 6, se muestra el perfil de los AG del alimento, resultando con un contenido total de 4.308% de AG. De los 15 AG encontrados, predominan dos de cadena larga, el oleico ($C_{18:1}$ *cis* 9) con un 1.165% y el linoleico ($C_{18:2}$) con 2.261%. Posiblemente el alimento aportó al coágulo. AG de cadena larga, con mayor contenido de ácido linoleico en la grasa del coágulo de leche de todos los animales, y que no haya habido diferencias entre tratamientos. Por lo tanto el aporte de los AG del alimento al perfil de los AG del coágulo de la leche de coneja pudiera influenciar también mayor contenido de AG de cadena larga, pero no así los de cadena corta. Sin

Cuadro 6. Perfil de los ácidos grasos del alimento de reproductores Malta Cleyton® (% en base seca).

Ácido graso ¹	Alimento
Ácidos grasos totales	4.308
Caproico	C _{6:0} 0.001
Laurico	C _{12:0} 0.008
Mirístico	C _{14:0} 0.007
Palmitico	C _{16:0} 0.614
Palmitoleico	C _{16:1} 0.012
Estearico	C _{18:0} 0.115
Oleico <i>trans</i> 9	C _{18:1} 0.002
Oleico <i>cis</i> 9	C _{18:1} 1.165
Oleico <i>cis</i> 11	C _{18:1} 0.098
Linoleico	C _{18:2} 2.261
Araquídico	C _{20:0} 0.015
Linolenico α	C _{18:3} 0.248
Linolenico γ	C _{18:3} 0.016
Araquidónico	C _{22:0} 0.013
Docosapropanoico	C _{24:0} 0.009

¹ los valores representan el porcentaje de cada AG relativos al total de ácidos grasos.

embargo, en el alimento solamente se detectó la presencia de un AG de cadena corta, el caproico (C6:0) pero solamente en un 0.0001%. También un resultado interesante ha sido que el CLA no fue detectado en el alimento, lo cuál permite especular que en algún compartimiento o tejido del organismo de la coneja está dando origen al CLA encontrado en el grupo control.

La síntesis de leche durante la etapa de lactancia es la principal actividad a satisfacer para la sobrevivencia de las crías. Por tal motivo es probable que los AG que contenga el alimento pueden ser transferidos hacia la glándula mamaria, por lo que en la coneja la síntesis *de novo* es más activa que en otras especies para formar AG cadena corta. Al observar el perfil de los AG en el alimento, se puede distinguir que el único AG de cadena corta presente en el mismo no se encontró en el coágulo de leche, lo que confirma que la síntesis *de novo* es la principal ruta de síntesis de AG en la glándula mamaria de la coneja. A pesar de que la leche de coneja debe caracterizarse por AG de cadena corta (Mellenberger y Bauman, 1974), en este estudio predominaron los AG de cadena larga, influenciados tal vez por su contenido en el alimento

El presente estudio es el primero que se realiza analizando el efecto del CLA sobre la composición del coágulo de leche de coneja, pero existen estudios con vacas lecheras donde al ser suplementadas con el CLA, el porcentaje de grasa se reduce, y se altera también el perfil de los AG de la leche (Baumanet al., 2008). La coneja en lactación no presenta el mismo efecto que la vaca, ya que no se observaron diferencias en el extracto etéreo ni en el total de los AG. Sin embargo, aunque no hubo diferencias estadísticas, el contenido de AG totales en el coágulo de leche de la coneja, varió de 38.4% en el grupo control, a 39.4, 40.3 y 40.9% en los tres niveles suplementados.

Los ácidos caprílico ($C_{8:0}$) y cáprico ($C_{10:0}$) representan el $20.15 \pm 1.31\%$ de los AG de cadena corta en el coágulo de leche de la coneja. Estos resultados son distintos a los presentados por Carey y Dils (1972) donde el contenido de caprílico ($C_{8:0}$) fue de 44% y el de cáprico ($C_{10:0}$) 51%. En otros estudios, pero analizando tejido mamario realizados por Strong y Dils (1972) en los cuales de caprílico ($C_{8:0}$) hubo 48% y cáprico ($C_{10:0}$) 43%, aunque también detectaron butírico ($C_{4:0}$) y caproico $C_{6:0}$. También Mellenberger y Bauman (1974) encontraron un 45% de caprílico ($C_{8:0}$) y 37% de cáprico ($C_{10:0}$). Resultados similares a los obtenidos por ellos, También en tejido mamario de animales inducidos a pseudogestación encontraron concentraciones de caprílico ($C_{8:0}$) de 70% y de cáprico ($C_{10:0}$) 31% (Stronget al., 1972).

Con respecto a los AG de cadena media, láurico ($C_{12:0}$), mirístico ($C_{14:0}$), miristoleico ($C_{14:1}$) y pentadecílico ($C_{15:0}$) representaron conjuntamente el $4.56 \pm 0.2\%$ del perfil. En la leche de coneja Carey y Dils (1972) encontraron únicamente láurico ($C_{12:0}$) y mirístico ($C_{14:0}$) con 2% y 1% respectivamente. También Glass et al (1967) publicaron concentraciones totales de 5.1% de láurico ($C_{12:0}$), mirístico ($C_{14:0}$) y pentadecílico ($C_{15:0}$). Los ácidos de cadena mediana en las investigaciones *in vivo*, presentaron valores menores a los encontrados en tejido mamario *in vitro*, por Mellenberger y Bauman (1974) quienes detectaron entre un 10% y un 19% de láurico ($C_{12:0}$) y mirístico ($C_{14:0}$) respectivamente, conforme avanzó la lactación.

Los AG de cadena larga en el presente estudio representaron el mayor porcentaje del total de los AG del coágulo de leche de la coneja ($74.72 \pm 2.70\%$), mientras que Carey y Dils (1972) encontraron 13%. En estudios *in vitro* con tejido mamario la proporción de estos ácidos fue escasa o nula (Strong y Dils, 1972). Asimismo, se observaron discrepancias con lo presentado por Glass et al (1967) quienes encontraron 52% de

AG de cadena larga. Mientras que Hall (1970) detectó del 30 al 40% de ácido palmítico ($C_{16:0}$), oleico ($C_{18:1}$) y linoleico ($C_{18:2}$).

Entre los AG de cadena larga detectados en este estudio se encuentra el ácido palmítico ($C_{16:0}$), que es el principal producto de la síntesis *de novo* de los AG en las células animales y vegetales. Su proceso de síntesis ocurre por el complejo enzimático de la sintetasa de los AG (Nelson y Cox, 2009). Y además de la síntesis *de novo* también ocurre la elongación de los AG, resultando en diferentes isómeros de cadena larga que son formados también por la actividad de las enzimas (Roskoski, 1998).

Se esperaba que los AG de cadena corta fueran influenciados por el CLA mostrándose reducidos debido a que en la coneja el 90% de la síntesis de AG es *denovo* (Mellenberger y Bauman, 1974) proceso a partir del cual se forman cadenas cortas de los AG. No obstante al no verse modificados y al presentarse efecto solo en algunas cadenas largas, se puede ver que existió cierta actividad sobre el último paso de la síntesis *de novo* porque el palmítico se redujo en los animales con tratamiento. De esta manera la síntesis de AG puede ser modificada principalmente por la inhibición enzimática (Linnet al., 2004) efectuada por el CLA que cambia la síntesis *denovo*.

Se ha demostrado en bovinos productores de leche que el CLA inhibe a las enzimas: Acetil CoAcarboxilasa y la sintetasa de ácidos grasos (Harvatine y Bauman, 2006), y activándose a la lipoprotein lipasa y Acil CoA de cadena larga debido a que, al incluir CLA como tratamiento, la glándula mamaria utiliza esos AG circulantes modificándolos en su número de carbonos e isomería porque actúa en los AG saturados e insaturados, dando lugar a la aparición de distintos isómeros, al ser formados por las Δ desaturasas presentes en la glándula mamaria, dando origen también al CLA (House et al., 2005). Por lo tanto, los principales AG que muestran efecto en el coágulo de leche de coneja cuando son suplementadas con CLA son los de cadena larga como: el palmítico ($C_{16:0}$), el oleico ($C_{18:1}$ *cis* 9), el araquídico ($C_{20:0}$), el eicosanoico ($C_{20:2}$) y el docosapentanoico ($C_{22:5}$).

Los AG de cadena larga del coágulo de leche detectados en esta investigación, son también característicos en la leche de mamíferos marinos como ballenas, focas y otros mamíferos como el oso polar. En estas especies se han determinado AG insaturados y poliinsaturados en su mayoría palmítico ($C_{16:0}$) y el palmitoleico ($C_{16:1}$), los cuales son dietas ricas en AG de cadena larga características de una alimentación basada principalmente en peces (Glass et al., 1967) Por lo tanto, se favorece la formación de una gran cantidad de AG de cadena larga que aparecerán en la leche de

esos animales favoreciendo el crecimiento de sus crías. El coágulo de leche de las conejas experimentales suplementadas con CLA en el presente estudio, presentaron un perfil de AG con características similares a las de los animales marinos. De la misma manera, cuando se ha administrado el CLA, a ratonas experimentales, se han visto perfiles de AG similares a los encontrados en las conejas (Linnet al., 2004; Harvatine y Bauman, 2006).

El contenido de AG de la leche entre mamíferos es diferente, ya que cada animal tiene distinta alimentación y existen diferencias dadas por la especie. Al comparar el perfil de AG del coágulo de leche de la coneja con algunas especies de animales domésticos como los rumiantes y los monogástricos, existen ciertas similitudes entre ellos. Los rumiantes y los conejos tienen en su perfil a los ácidos: mirístico (C_{14:0}), palmítico (C_{16:0}), esteárico (C_{18:0}) y oleico (C_{18:1}) (Parodi, 1983; Glass et al., 1972). Los animales monogástricos como el perro y el gato al igual que la coneja tienen el palmítico (C_{16:0}), palmitoleico (C_{16:1}), oleico (C_{18:1}) y linoleico (C_{18:2}). En el humano y en el cerdo se han encontrado a los ácidos: palmítico (C_{16:0}), oleico (C_{18:1}) y linoleico (C_{18:2}) que de la misma manera se encuentran en la coneja (Glass et al., 1972; Corino et al., 2004). En todas estas especies, en su perfil de AG predominan los de cadena larga, aunque en la coneja se encontró una mayor variedad y concentración de isómeros de varios de los AG de cadena larga que no se presentan en las especies antes mencionadas

Las enzimas involucradas en la síntesis de lípidos en las conejas ya han sido evaluadas. Sin embargo, aún se desconoce cuáles están siendo inhibidas en la presencia de CLA. Anteriormente se mencionó que en los bovinos productores de leche, algunos complejos enzimáticos están siendo inhibidos por el CLA, pero no se puede dar por hecho que es sobre esas mismas enzimas donde actúa el CLA en el proceso de síntesis de grasa en la leche de la coneja, principalmente porque los perfiles de sus los AG son diferentes. Será interesante poder dilucidar los mecanismos por los cuales el CLA regula la síntesis de lípidos, principalmente a nivel subcelular y si esos mecanismos son similares en ambas especies.

VIII. CONCLUSIÓN

El CLA no tiene efecto sobre el consumo de alimento y el peso corporal de las madres ni de los gazapos, tampoco en la producción y la composición química del coágulo de leche. Sin embargo, el CLA alteró el perfil de los AG del coágulo de leche, específicamente deprimiendo la síntesis de los ácidos palmítico ($C_{16:0}$), oleico ($C_{18:1}$ *cis* 9), eicosanoico ($C_{20:2}$) y dosocapentanoico ($C_{22:5}$), y el incremento del ácido araquídico ($C_{20:0}$). Además, la glándula mamaria de la coneja demostró la capacidad para incluir dentro de los AG de los lípidos del coágulo a los isómeros del CLA suplementados ($C_{18:2}$ *cis*- 9, *trans*-11 y $C_{18:2}$ *trans*-10, *cis*-12). También estos dos isómeros fueron detectados en los animales que no recibieron tratamiento por lo que existe un sitio aún desconocido de síntesis de CLA en el organismo de la coneja.

IX. IMPLICACIONES

Con base en los resultados del presente trabajo se tendrán que llevar a cabo estudios sobre cinética y expresión enzimática que permitan dilucidar a qué nivel el CLA pudiera estar modificando la lipogénesis en la glándula mamaria de las conejas. Por otro lado, los resultados de esos estudios permitirán conocer cómo y cuando se deberá incluir al CLA en la alimentación de animales domésticos para beneficio del animal y de la salud humana.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera, G. C., Gil, C. M., Cañete, E. R. y A. Gil. 2006. Alteraciones del metabolismo lipídico en la obesidad. *Rev. EspObes.* 4:261-274.
- Aguilera, B. A. y J. Soto, G. 2008. *Bioquímica. Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Ciencias Naturales. UAQ. México. Pp. 125.*
- Anderson, S. M., Rudolph, M. C., McManaman, J. L. y M. C. Neville. 2007. Secretory activation in the mammary gland: it's not just about milk protein synthesis. *BreastCancer Res.* 9:204-217.
- Angulo A. J., Mahecha L. L. y M. Olvera. 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.
- AOAC. 1990. *Official Methods of analysis. Association of official analytical chemists. USA.*
- Bauman D. E., Perfield J. W., Harvatin K. J. and L. H. Baumgard. 2008. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: lactation and the ruminant model. *J. Nutr.* 138:403-409.
- Bauman, D. E. and Lock, A. L. 2006. Conjugated linoleic acid: Biosynthesis and nutritional significance. *Advanced Dairy Chemistry. Vol. 2. 3ª Edición. Pp 93-135.*
- Bernal, S. G., Perfield, M. W., Barbano, D. M., Bauman, D. E., and T. R. Overton. 2003. Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugate linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *J Dairy Sci.* 86:3218-3228.
- Bontempo, V., Sciannimanico, D., Pastorelli, G., Rossi, R., Rosi, F. and C. Corino. 2004. Dietary conjugated linoleic acid positively affects immunologic variables in lactating sows and piglets. *J. Nutr.* 134:817-824
- 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
- Castañeda, G E., Benefield, B. C., De Veth, M. J., Santos, N. R., Gilbert, R. O., Butler, W. R. and D. E. Bauman. 2005. Evaluation of the mechanism of action of

- conjugated linoleic acid isomers on reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 9: 4253-4264.
- Champe, P. C., Harvey, R. A. y D. R. Ferrier. 2006. *Bioquímica*. 3ª edición. McGraw Hill. Pp 209-210.
- Christie, W.W. 1982. A simple procedure for the rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. *J. Lipid Res.* 23:1072-1075.
- Cochran, W. G. y Cox, M. G. 1990. *Diseños Experimentales*. 2 ed. Editorial Trillas. México. Pp 68, 132-133.
- 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.
- Chouinard, P. Y., Corneau, L., Barbano, D. M. Metzger, L. E. 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.
- 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.
- Cuarón, I. J., Mejía, G. C. y J. A. Rentería. 2007. Manejo y alimentación de la cerda en lactación. *Alimentación del hato reproductor porcino*. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología Animal, INIFAP. Pp 118-132.
- De Blas, C. 2004. *XX Curso de Especialización FEDNA*. Departamento de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid. Barcelona. España.
- De Blas, C. and J. Wiseman. 1998. *The nutrition of rabbit*. London. UK. Pp 1-12.
- De Veth, M. J., Castañeda-Gutierrez, E., Dwyer D. A., Pfeiffer, A. M., Putnam, D. and D. E. Bauman. 2004. Nutrient status influences the effect of conjugated linoleic acid on milk synthesis. *J. Dairy Sci.* 87(Suppl. 1):94.
- Drackley, J., Overton, T.R. and G. N. Douglas. 2001. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 84:E100-E112.

- Eder, K. and R. Ringseis. 2010. Metabolism and actions of conjugated linoleic acids on atherosclerosis-related events in vascular endothelial cells and smooth muscle cells. *Mol. Nutr. Food Res.* 54:17-36.
- Espenshade, P. J. 2006. SREPBs: sterol-regulated transcription factors. *J. CellSci.* 119:973-973.
- Fernández, Q, A., Rodríguez, V.M. y Portillo, M.P. 2004. Ácido linoleico conjugado y grasa corporal. *Rev. EspObes.* 2:71-79.
- Ganong, W. 1992. *Fisiología Médica.* Ed. Manual Moderno. 1ª Edición. México. Pp 203-208.
- García, S, P. y C. Aceves. 2005. Estudio de factores nutricionales asociados a la prevención de cáncer mamario. Importancia de los modelos animales. *Archivos latinoamericanos de nutrición.* Disponible en: www.alanrevista.org. Consultado: Octubre 2011.
- Gidenne, T. et F. Lebas. 2005. Le comportemenelimentaire du lapin. *Journées de la RechercheCunicole.* Pp 183-196.
- 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-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.
- Hall, A.J. 1970. Fatty acid composition of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) milk fat throughout lactation. *Int. J. Biochem.* 414-418.
- Harvatine K. J. and D. E. Bauman. 2006. SREBP1 and thyroid hormone responsive Spot 14 (S14) are involved in the regulation of bovine mammary lipid synthesis during diet-induced milk fat depression and treatment with CLA. *J. Nutr.* 136: 2468-2474.
- Harvatine, K. J., Boisclair Y. R. and D.E. Bauman. 2009. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal.* 3:40-54.

- House, R. L., Cassady, J. P., Eisen, E. J., McIntosh, M. K. and J. Odle. 2005. Conjugated linoleic acid evokes de-lipidation through the regulation of genes controlling lipid metabolism in adipose and liver tissue. The International Association for the Study of Obesity. *Obesityreviews*. 6:247-258.
- Koeppen, B. M. y B. A. Stanton. 2009. Fisiología. 6ª. Edición. Elsevier International.
- Lebas, F. 1978. La digestión chez le lapin. *Cuniculture*. 5:233-234.
- Lehninger, L. A. 1975. Biochemistry. 2ª edición. Worth Publishers, Inc. N. Y. USA. Pp 661-667.
- Lin, X., Loo J. J. and J. H. Herbein. 2004. *Trans* 10, *cis* 12-18:2 is a more potent inhibitor of de novo fatty acid synthesis and desaturation than *cis*-9, *trans*-11 18:2 in the mammary gland of lactating mice. *J. Nutr.* 134:1362-1368.
- Lock, A. L., Corl, B. A., Barbano D. M., Bauman D. E. and C. Ip. 2004. The anticarcinogenic effect of *trans*-11 18:1 is dependent on its conversion to *cis*-9, *trans*-11, CLA by Δ 9-desaturase in rats. *J Nutr.* 134:2698-2704.
- Lock, A. L., Teles, B. M., Perfield, J. W., Bauman D. E. y L. A. Sinclair. 2006. A conjugated linoleic acid supplement containing *trans*-10, *cis*-12 reduces milk fat synthesis in lactating sheep. *J. Dairy Sci.* 89:1525-1532.
- Lock, A. L., Rovai, M. Gipson, T. A., deVeth, M. J. and D. E. Bauman. 2008. A conjugated linoleic acid supplement containing *trans*-10, *cis*-12 reduces milk fat synthesis in lactating goats. *J. Dairy Sci.* 91:3291-3299.
- Loo, J. J. and J. H. Herbein. 1998. Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis. *J. Nutr.* 128: 2411-2419.
- 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., Pérez, H. M., Pérez, A. L. y C. G. Gómez. 2010. Digestión de los lípidos en los rumiantes: Una revisión. *RevInterciencia* 35:240-246.
- Mellenberger, R. W. and D. E. Bauman. 1974. Metabolic adaptations during lactogenesis. *J. Biochem.* 138:373-379.

- Murray, R., Granner, D., Mayes. P. y Rodwell, V. 2001. Bioquímica de Harper. 15 ed. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. México. Pp 150-151.
- Nelson, D. L. and M. M. Cox. 2009. Principles of Biochemistry. 5th edition. Freeman editorial. USA.
- Parodi, P. W. 1983. Relationship between fatty acid composition and triglyceride structure of bovine milk fat. J. Dairy Res. 50:443-447.
- Petacchi, F., Buccioni, A., Giannetti, F. and G. Capizzano. 2005. Influence of CLA supplementation on the lipid quality of rabbit meat. Ital J. Anim Sci. 4 (suppl 2):556-558.
- Riedman, M. and C.L. Ortiz. 1979. Milk composition in elephant seal. Physiol Zoology. 52:240-249.
- Robertson, J. B., y P. J. Van Soest. 1981. The analyses of dietary fiber in foods. Marcel Decker, New York, USA Pp 123-158..
- Roca, A. I., González-Rodríguez A., Vázquez, O. P. y J. A. Fernández-Casado. 2009. Efecto de la suplementación sobre el perfil de ácidos grasos en la leche de vaca. Producción animal con base en pastos. Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM). Publicado en: www.ciam.es. Consultado: Septiembre 2011.
- Rodríguez, C, M., Tovar, R. A., del Prado, M. y Torres, N. 2005. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. 457-472.
- Roskoski, R. 1998. Bioquímica. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. Pp 172-173, 182-183, 206.
- SAS. 2001. SAS User's Guide: Version 8. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Silveira, M., Martínez-Piñeiro, L. y R. Carraro. 2007. Nutrigenómica, obesidad y salud pública. Rev. Esp. Salud Públ. 81:475-487.
- Silveira, M., Monereo, S. y B. Molina. 2003. Alimentos funcionales y nutrición óptima. Rev Esp. Salud Pública. 3. 77:317-331.
- 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.
- Stryer, L. 1995. *Bioquímica*. 4ª edición. Editorial Reverte, S. A. México. Pp 509-510. 614- 615, 772-773.
- Swenson, M. J. 1984. *The physiology of domestic animals*. 10ª edición. Cumstock publishing associates. USA. Pp 870-873.
- Tanaka, K. 2005. Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and physiological functions. *J. AnimSci.* 76:291-303.
- Vernia, M. S. 2007. Estudio del factor de transcripción SREBP1 en estados de resistencia a insulina. Tesis doctoral. Universidad de Valencia. España.