



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS



DOCTORADO EN CIENCIAS INTERDISCIPLINARIAS

Influencia de los ácidos grasos trans industriales y naturales en la memoria apetitiva y el metabolismo de lípidos

**Tesis que para obtener el grado de:
Doctor en Ciencias Interdisciplinarias presenta:**

Mariana Dorantes Gilardi

Línea de Investigación: Bioquímica y Biología Celular

Director de tesis

Dr. José Alfredo Méndez Cabañas

San Luis Potosí, México. 2 de julio de 2026

Jurado Examinador

Dr. Edgardo Ugalde Saldaña, (presidente)

Dr. Carlos Espinosa Soto, (sinodal)

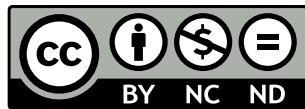
Dr. Roberto Sánchez Olea, (sinodal)

Dr. Pedro Ruiz Díaz, (sinodal)

Dra. María del Rosario Álvarez Valadez, (sinodal externa)

Departamento de Física

Universidad de Sonora



Influencia de los ácidos grasos trans industriales y naturales en la memoria apetitiva y el metabolismo de lípidos © 2026

by Mariana Dorantes Gilardi

is licensed under CC BY-NC-ND 4.0.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Resumen

Los ácidos grasos trans (TFA) se dividen en dos categorías: industriales (iTFA), como el ácido trans-elaídico (TEA), y rumiantes (rTFA), como el ácido trans-vaccénico (TVA). Mientras que el consumo excesivo de iTFA se asocia consistentemente con mayor riesgo de enfermedad coronaria por sus efectos aterogénicos, los rTFA no muestran la misma relación y algunos estudios sugieren incluso beneficios cardiovasculares y metabólicos. En este estudio se compararon de manera sistemática los efectos biológicos de TEA y TVA. Ratones recibieron 168 mg/kg durante 45 días y se evaluaron sus perfiles lipídicos séricos y memoria apetitiva. Los ratones tratados con TEA mostraron un perfil fuertemente aterogénico, con incrementos significativos en colesterol total y en triglicéridos, de muy baja densidad (VLDL), de baja densidad (LDL) y de alta densidad (HDL) (todos con $p < 0.0001$). En contraste, los tratados con TVA presentaron reducciones significativas en colesterol, triglicéridos, LDL y HDL ($p < 0.0001$) y una disminución modesta en VLDL ($p = 0.0039$). En el aspecto conductual, el TEA deterioró el aprendizaje en el laberinto de ocho brazos, con adquisición más lenta de la tarea ($p = 0.0353$), mientras que el TVA mejoró el desempeño ($p < 0.0001$). De forma similar, el ácido oleico (OA), un cis monoinsaturado natural, también mejoró el aprendizaje ($p = 0.0004$). Tomando en cuenta todo lo anterior, los resultados confirman que los iTFA como el TEA tienen efectos negativos cardiovasculares y cognitivos, mientras que los rTFA como el TVA pueden ejercer efectos protectores, comparables a los del OA. Estas conclusiones tienen

implicaciones en nutrición, etiquetado de alimentos y comprensión del impacto diferencial de los isómeros de grasas. Posibles investigaciones futuras relacionadas con este trabajo podrían ser, por ejemplo, dilucidar los mecanismos moleculares que subyacen a estos efectos, incluyendo el papel del metabolismo lipídico, la neuroinflamación y el eje intestino-cerebro, así como las implicaciones a largo plazo de la exposición crónica en diferentes tipos de TFAs.

Abstract

Trans fatty acids (TFAs) are divided into industrial (iTFA), such as elaidic acid (TEA), and ruminant (rTFA), such as vaccenic acid (TVA). Excessive iTFA intake is strongly linked to coronary heart disease due to their atherogenic effects, whereas rTFAs show neutral or even beneficial effects. In this study, we systematically compared TEA and TVA by administering 168 mg/kg to mice for 45 days, then assessing serum lipid profiles and performance in an appetitive memory task. Our findings reveal contrasting divergent outcomes. TEA produced robust atherogenic responses, with significant increases in total cholesterol, triglycerides, very-low-density lipoprotein (VLDL), low-density lipoprotein (LDL), and high-density lipoprotein (HDL) (all $p < 0.0001$). In contrast, TVA improved lipid profiles, reducing cholesterol, triglycerides, LDL, HDL (all $p < 0.0001$), and modestly lowering VLDL ($p = 0.0039$). Behaviorally, TEA impaired learning in an eight-arm maze ($p = 0.0353$ vs. control), while TVA enhanced performance ($p < 0.0001$). Oleic acid (OA), a natural cis-monounsaturated fatty acid, also improved learning ($p = 0.0004$), mirroring TVA. Overall, iTFAs like TEA exert deleterious cardiovascular and cognitive effects, whereas rTFAs such as TVA may be protective. These findings have implications for nutrition policy, food labeling, and our understanding of dietary fat isomers. Future research related to this work will focus on elucidating the molecular mechanisms underlying these effects, including the roles of lipid metabolism, neuroinflammation, and the gut-brain axis, as well as the long-term implications of chronic exposure to different types of TFAs.

Agradecimientos

Mi más sincero reconocimiento al Dr. José Alfredo Méndez Cabañas por su invaluable contribución al desarrollo de este proyecto. En particular, su apoyo en la implementación de la infraestructura experimental, así como sus aportaciones en la discusión y análisis de los resultados, fueron fundamentales para la realización de este trabajo.

Agradezco también a los doctores Edgardo Ugalde Saldaña, Carlos Espinosa Soto, Roberto Sánchez Olea y Pedro Ruiz Díaz por sus valiosas observaciones, comentarios y sugerencias durante el desarrollo de la investigación, así como por la revisión crítica de este manuscrito.

Expreso asimismo mi agradecimiento a la doctora María del Rosario Álvarez Valadez por la lectura cuidadosa de este manuscrito y por las observaciones que contribuyeron a mejorar su contenido.

De igual manera, agradezco al doctor Bernardo José Luis Arauz Lara su comprensión y generosidad al facilitar el uso de su infraestructura experimental.

Finalmente, deseo expresar un agradecimiento muy especial a la señora Maricela Cano por su invaluable ayuda, paciencia y apoyo en los aspectos administrativos relacionados con esta tesis. Su disposición y respaldo constante fueron fundamentales para la culminación de este trabajo.

Agradezco al Pueblo de México, a través del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), por la beca otorgada para la realización de esta tesis.

Dedicatoria

A mi papá y a mi mamá,

Porque todo lo que he logrado se sostiene sobre la fuerza, el amor y la paciencia con la que me han cargado desde el primer día. Ustedes fueron el origen de todos mis caminos, incluso de aquellos que aún no sabía que podía recorrer. Cada paso en este viaje empezó en sus manos y con su amor. Esta victoria académica es en realidad un reflejo del hogar que construyeron para mí: todo lo que soy y todo lo que llegaré a ser, lleva su huella.

A Michael,

Eres mi compañero en esta vida, mi alegría tranquila, mi mejor descubrimiento. Tu existencia tan singular y tan luminosa, es una de esas rarezas que le dan sentido al viaje y agradezco profundamente coincidir contigo en este fragmento del universo. *Jeg elsker deg herfra til Andromeda og tilbake.*

Índice general

Índice de figuras	VIII
1. Introducción	1
1.1. Antecedentes	1
1.2. Estado del arte	4
1.3. Vacíos del conocimiento	5
1.4. Justificación del presente trabajo	5
2. Objetivos y Organización de la tesis	6
2.1. Objetivo general	6
2.2. Objetivos específicos	6
2.3. Organización de la Tesis	7
3. Metodología y Diseño Experimental	8
3.1. Animales y Dosificación	9
3.1.1. Determinación de la dosis experimental	10
3.1.2. Administración de los tratamientos	12
3.2. Procedimiento de Aprendizaje Apetitivo	13
3.3. Perfiles Lipídicos en Suero	15
3.4. Análisis Estadístico	18
4. Resultados	24
4.1. Impacto diferencial de los ácidos grasos trans según su origen (industrial vs. rumiante) en el metabolismo lipídico	24

4.2. Comparación de los efectos neurocognitivos de los ácidos grasos trans industriales y rumiantes en la formación de la memoria apetitiva	31
5. Discusión	37
5.1. Déficits vasculares y energéticos podrían estar en la base de los efectos adversos del ácido trans-elaídico (TEA) sobre la memoria apetitiva	39
5.2. CREB y el excedente energético podrían explicar los efectos positivos del ácido trans-vaccénico sobre la memoria apetitiva	41
5.3. Limitaciones y fortalezas de este estudio	45
6. Conclusiones y perspectivas	47
6.1. Conclusiones	47
6.2. Perspectivas	49

Índice de figuras

1.1.	Ilustración de los efectos del consumo de ácidos grasos trans en la salud cardiovascular y cerebral.	2
1.2.	ilustración sobre los efectos de los TFA, de origen industrial y rumiante, en la salud.	3
3.1.	Escalamiento de dosis en función de datos poblacionales y clínicos. La dosis intermedia experimental (168 mg/kg) se eligió como la dosis representativa para este trabajo, ya que cubre el rango entre el consumo medio y el máximo reportado en humanos. La figura representa un consumo medio de 56 mg/kg/día (equivalente a 5 g/día en humanos de 90 kg), 55 mg/kg (4.14 g/día en hombres de 76 kg) una dosis intermedia de 168 mg/kg (usada en los experimentos) con un consumo máximo estimado: 448 mg/kg (29 g/día)	11
3.2.	Ilustración de la administración de la dosis. La figura representa el diseño experimental descrito en el texto.	12
3.3.	Ilustración esquemática del laberinto de 8 brazos utilizado para el estudio de los cambios de memoria en los ratones	13
3.4.	Ilustración esquemática del protocolo experimental utilizado en el aprendizaje apetitivo.	14

3.5. Ilustración esquemática de la relación entre los diferentes tipos de lípidos. Se muestra también la clasificación de los ácidos grasos según su grado de saturación y configuración cis/trans.	16
3.6. Ilustración esquemática del procedimiento experimental desde la recolección de la muestra hasta el análisis de biomarcadores.	21
3.7. Ilustración del cálculo de tamaño de muestra mediante la función <i>power.anova.test</i> en R. Se utilizaron parámetros estándar ($\alpha = 0.05$, potencia = 0.8, tamaño de efecto grande $f = 0.7$) para determinar un tamaño adecuado de muestra ($n = 30$) en un diseño de 5 grupos (6 ratones/grupo).	22
3.8. Diagrama de flujo del análisis estadístico realizado. Se aplicó una evaluación de normalidad (Shapiro-Wilk), seguida de ANOVA o pruebas no paramétricas según el caso. La progresión del aprendizaje se evaluó mediante regresión lineal, y la detección de valores atípicos se hizo con la prueba de Grubbs.	23
4.1. Efectos de la dosis de ácido trans-elaídico sobre el metabolismo lipídico. Una descripción más detallada de cómo se obtuvieron los resultados, se muestra en el texto.	25
4.2. Comparación de los efectos del ácido trans-elaídico con respecto al ácido trans-vaccénico y al ácido oleico cis sobre el metabolismo lipídico	28
4.3. Efectos en la memoria debido a la administración de los ácidos trans-elaídico, ácido trans-vaccénico y ácido oleico cis. Como referencia, también se muestran los resultados de los ratones de control.	32

6.1. Representación esquemática de las principales conclusiones de este trabajo. 49

Abreviaciones

AG	ácidos grasos
AGM	ácidos grasos monoinsaturados
AGP	ácidos grasos poliinsaturados
AGS	ácidos grasos saturados
BDNF	factor neurotrófico derivado del cerebro
cAMP	adenosín monofosfato cíclico
CLA	ácido linoleico conjugado
COA	ácido oleico cis
CPHO	hidrogenación parcial catalítica de aceites vegetales
CREB	proteína de unión al elemento de respuesta al cAMP
DE	desviación estándar
DHA	ácido docosahexaenoico
EPA	ácido eicosapentaenoico
FFAR2	receptor de ácidos grasos libres tipo 2
GPR40	receptor del ácido trans-palmitoleico
HDL	triglicéridos de alta densidad
iTFA	ácidos grasos industriales

LDL	triglicéridos de baja densidad
OA	ácido oléico
PPAR- α	receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa
RA	ácido ruménico
rTFA	ácidos grasos rumiantes
SCFAs	concentración de ácidos grasos de cadena corta
TEA	ácido trans-elaídico
TFA	ácidos grasos trans
TPA	ácido trans-palmitoleico
TVA	ácido trans-vaccénico
VLDL	triglicéridos de muy baja densidad

Capítulo 1

Introducción

1.1. Antecedentes

La alimentación desempeña un papel fundamental en la modulación de múltiples riesgos para la salud humana. Entre los compuestos de interés creciente en las últimas décadas se encuentran los ácidos grasos trans, debido a su asociación con enfermedades cardiovasculares, metabólicas y, más recientemente, con disfunciones del sistema nervioso central. Estos lípidos, presentes tanto en productos procesados como de origen animal, alteran de manera significativa el perfil lipídico plasmático, elevando los niveles de lipoproteínas de baja densidad y de muy baja densidad, así como de colesterol total y triglicéridos. De forma paralela, reducen las concentraciones de lipoproteínas de alta densidad, las cuales ejercen una función protectora frente al desarrollo de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular [1, 2].

Desde el enfoque de las neurociencias, la alimentación también se reconoce como un modulador crítico del estado funcional del sistema nervioso. El impacto de los TFA no se limita a efectos hemodinámicos o metabólicos; existen evidencias sustanciales que sugieren que estos compuestos podrían afectar la cognición, la plasticidad neuronal y la integridad sináptica. Numerosos estudios clínicos y preclínicos han demostrado que un consumo elevado de TFA

favorece la formación de la capa del colesterol (aterogénesis), aumentando el riesgo de isquemia cerebral, accidente cerebrovascular y deterioro cognitivo vascular [3]. Además, los TFA industriales se han vinculado a mecanismos patológicos como el estrés oxidativo [4, 5, 6] y la disfunción mitocondrial [7], procesos estrechamente relacionados con enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson. En la Figura 1.1 se muestran los efectos del consumo de ácidos grasos trans en la salud cardiovascular y cerebral.

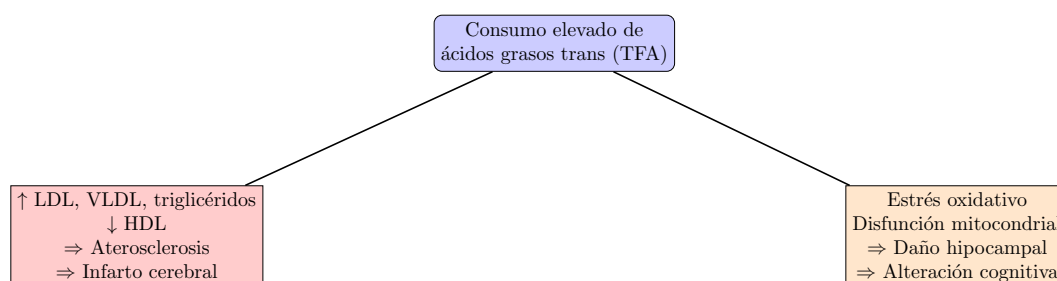


Figura 1.1: Ilustración de los efectos del consumo de ácidos grasos trans en la salud cardiovascular y cerebral.

Particularmente, Liu et al. [7] han demostrado que el ácido eláidico, uno de los TFA más comunes derivados de procesos industriales, interfiere con la homeostasis del calcio en las membranas mitocondriales asociadas, lo que perturba el metabolismo energético neuronal y aumenta la vulnerabilidad celular. Estos efectos se han correlacionado funcionalmente con alteraciones cognitivas. Golumb y Bui [8] encontraron una relación entre el consumo de TFA y un menor rendimiento en pruebas de memoria en adultos jóvenes, subrayando el posible impacto negativo sobre regiones cerebrales clave como el hipocampo, implicado en procesos de aprendizaje y consolidación de la memoria. Este hallazgo se respalda en modelos animales donde se observa disminución de la neurogénesis hipocampal y afectación de la plasticidad sináptica inducidas por exposición a TFA durante etapas críticas del desarrollo [9, 10].

Desde una perspectiva nutricional, los TFA se clasifican en dos tipos principales: los de origen industrial, generados principalmente mediante la hidrogenación parcial catalítica de aceites vegetales (CPHO), y los de origen rumiante, que se forman de manera natural en el tracto digestivo de vacas, ovejas y cabras por acción de bacterias anaerobias [11]. Aunque los TFA pueden variar entre 4 y 28 átomos de carbono, los más prevalentes en alimentos son isómeros del ácido trans-octadecenoico C18, siendo los más representativos el ácido trans-elaídico, (trans-9 18:1) y el ácido trans-vaccénico (trans-11 18:1), predominantes en los iTFA y rTFA, respectivamente [12, 13]. Una ilustración sobre los efectos de los TFA, de origen industrial y rumiante, en la salud se muestra en la Figura 1.2.

Característica	iTFA (Industriales)	rTFA (Rumiantes)
Ejemplo principal	Ácido trans-elaídico (TEA)	Ácido trans-vaccénico (TVA)
Origen	Hidrogenación parcial de aceites vegetales	Biohidrogenación en rumen de animales
Fuente dietética	Margarinas, frituras, procesados	Carne, leche y productos lácteos
Efectos conocidos	Aterosclerosis, daño cognitivo, inflamación	Potenciales efectos antiinflamatorios y neuroprotectores
Evidencia clínica	↑ Riesgo cardiovascular y neurodegenerativo	↓ Inflamación intestinal, ↓ crecimiento tumoral

Figura 1.2: ilustración sobre los efectos de los TFA, de origen industrial y rumiante, en la salud.

Cabe destacar que, aunque la producción industrial de TEA ha sido prohibida en muchos países debido a su toxicidad, este compuesto aún puede generarse por isomerización térmica del ácido oleico cis (COA) durante procesos de fritura a altas temperaturas o por oxidación fotoquímica prolongada [14, 15, 16]. Esta exposición incidental representa una fuente dietética relevante, especialmente en poblaciones con alta ingesta de alimentos ultraprocesados.

En contraste con los efectos adversos del TEA, algunos estudios sugieren que ciertos rTFA como el TVA o el ácido trans-palmitoleico (TPA) podrían tener propiedades antiinflamatorias, hipolipemiantes

e incluso neuroprotectoras. El TVA ha sido relacionado con menor crecimiento tumoral [17], reducción de la inflamación intestinal [18] y protección cardiovascular [19, 20]. A nivel cerebral, investigaciones recientes indican que el TVA modula la respuesta inmunitaria antitumoral mediante la activación de linfocitos T CD8+ [21], lo cual podría tener implicaciones en la homeostasis del sistema nervioso central.

Adicionalmente, modelos murinos han revelado que la exposición prenatal o durante la lactancia a TFA industriales puede alterar la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y de receptores de glucocorticoides en el hipocampo, afectando la respuesta al estrés y la consolidación de la memoria episódica en la adultez [9, 10].

1.2. Estado del arte

De acuerdo a lo anterior, el estado del arte de los efectos de los iTFA y rTFA en los procesos cognitivos se pueden resumir en lo que sigue.

- Comparaciones directas entre isómeros específicos de TFA son relativamente escasas.
- La mayoría de los estudios se centra en efectos cardiovasculares más que en cognición.
- Existe un creciente interés en la relación entre metabolismo lipídico, inflamación y función cerebral.
- El eje intestinos-cerebro se ha propuesto como un mecanismo relevante en la interacción entre dieta y función neuronal.

1.3. Vacíos del conocimiento

A pesar de los avances en la investigación sobre TFA, aún existen varias preguntas abiertas. La mayoría de los estudios analiza mezclas de TFA dietarios y no comparaciones directas entre isómeros específicos como TEA y TVA. Además, los efectos de estos lípidos sobre procesos cognitivos han sido menos estudiados que sus efectos cardiovasculares. Comprender los mecanismos diferenciales entre iTFA y rTFA representa una frontera importante en la investigación nutricional.

1.4. Justificación del presente trabajo

El estudio de los ácidos grasos trans sigue siendo altamente relevante desde el punto de vista científico y de salud pública. Comprender las diferencias biológicas entre los TFA industriales y los de origen rumiante es esencial para mejorar las recomendaciones nutricionales y para comprender cómo la estructura molecular de los lípidos puede influir en procesos metabólicos y cognitivos. Dado que el hipocampo es fundamental para tareas de navegación espacial y motivación alimentaria [22], se plantea la hipótesis de que los TFA pueden interferir en procesos de aprendizaje asociativo.

Capítulo 2

Objetivos y Organización de la tesis

2.1. Objetivo general

Con el objetivo de validar la hipótesis anterior, el presente trabajo se propone evaluar experimentalmente el impacto diferencial de la ingesta de ácido trans-elaídico y ácido trans-vaccénico, los dos ácidos grasos trans más prevalentes en la dieta humana, sobre los niveles séricos de biomarcadores del metabolismo lipídico y sobre el desempeño conductual en una tarea de aprendizaje espacial basada en recompensa, utilizando un modelo murino. Este estudio busca aportar evidencia empírica al debate actual sobre los efectos neurobiológicos específicos de distintos tipos de TFA, y contribuir así a la formulación de recomendaciones en políticas de salud pública orientadas a la prevención del deterioro cognitivo y otras patologías neurovasculares asociadas con la dieta.

2.2. Objetivos específicos

Los objetivos específicos de esta investigación son:

- Evaluar los efectos de la ingesta de TEA y TVA sobre los niveles séricos de biomarcadores del metabolismo lipídico (colesterol total, HDL, LDL/VLDL y triglicéridos) en un modelo mu-

rino. Para ello, se determina y compara el efecto del ácido eláídico, vaccénico y oleico en los niveles de colesterol en la sangre.

- Analizar si la administración de TEA y TVA induce alteraciones en el desempeño conductual de los ratones en una tarea de memoria espacial basada en recompensa, considerando que esta habilidad depende críticamente del funcionamiento del hipocampo.

2.3. Organización de la Tesis

El desarrollo de esta tesis se organiza de la siguiente manera: En el Capítulo 3 se describen en detalle la metodología y el diseño experimental utilizados en la realización del estudio, incluyendo la administración de los ácidos grasos, las pruebas conductuales y los procedimientos bioquímicos. El Capítulo 4 presenta los resultados obtenidos, divididos en dos secciones principales: los efectos diferenciales de TEA y TVA sobre los biomarcadores lipídicos séricos, y los efectos conductuales observados en la tarea de aprendizaje apetitivo. En el Capítulo 5, se lleva a cabo una discusión crítica de los hallazgos experimentales en el contexto del conocimiento actual sobre los TFA, integrando los resultados con estudios previos y destacando sus implicaciones fisiopatológicas. Finalmente, el Capítulo 6 resume las principales conclusiones del trabajo y ofrece una perspectiva sobre futuras líneas de investigación en el campo de la nutrición y la neurobiología de los lípidos.

Capítulo 3

Metodología y Diseño Experimental

En este capítulo se presentan la metodología y el diseño experimental utilizados en el desarrollo de la presente tesis. Se describen, de forma general, los enfoques experimentales empleados para estudiar los efectos del consumo de ácidos grasos trans sobre el metabolismo lipídico y el desempeño en tareas de memoria, utilizando como modelo experimental ratones de la cepa BALB/cJ.

Este capítulo se estructura en seis apartados principales:

- En el primer apartado se describen las características químicas y la procedencia de los ácidos grasos suministrados a los ratones, incluyendo el TEA y el TVA, representativos de los TFA industriales y rumiantes, respectivamente.
- El segundo apartado detalla las dosis utilizadas para cada ácido graso, así como el procedimiento de escalamiento para hacerlas equivalentes al consumo promedio humano, considerando el peso corporal y la ingesta calórica.
- En el tercer apartado se expone el protocolo de administración diaria de los ácidos grasos, especificando la duración del tratamiento, las condiciones de alojamiento de los animales, y los controles implementados para evitar sesgos experimentales.
- El cuarto apartado describe el procedimiento conductual utili-

zado para evaluar el aprendizaje apetitivo en un laberinto de ocho brazos, diseñado para medir la memoria espacial y asociativa dependiente del hipocampo. Se especifican las fases de habituación, entrenamiento y registro de tiempos de respuesta.

- El quinto apartado se enfoca en la evaluación de biomarcadores séricos del metabolismo lipídico, como colesterol total, HDL, LDL, VLDL y triglicéridos, utilizando técnicas colorimétricas validadas. Estos marcadores permiten caracterizar bioquímicamente las alteraciones inducidas por el consumo crónico de TFA.
- Finalmente, en el sexto apartado se detalla el análisis estadístico aplicado para validar las conclusiones obtenidas. Se explican las pruebas utilizadas para determinar normalidad, la estrategia de comparación entre grupos, el cálculo del tamaño muestral y el control de posibles factores de confusión.

Este enfoque metodológico integrado permite establecer correlaciones cuantitativas y funcionales entre el consumo de ácidos grasos trans, las alteraciones metabólicas observadas y los efectos cognitivos registrados en el modelo murino. De este modo, se busca aportar evidencia científica sólida sobre los riesgos diferenciales asociados al consumo de TFA industriales y rumiantes.

3.1. Animales y Dosificación

Los compuestos utilizados fueron el TEA cat#E4637, TVA cat#V1131) y COA, cat#O1008, adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE.UU.). Los ácidos grasos se disolvieron en etanol absoluto (cat#459844, Sigma-Aldrich), el cual se empleó como vehículo de administración.

Los ensayos se llevaron a cabo en ratones machos adultos de la cepa BALB/cJ, de 75 días de edad, obtenidos del Centro de Bio-

ciencias de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP). Esta cepa fue elegida por su resistencia al desarrollo de diabetes tipo 2 bajo dietas hiperlipídicas, lo cual facilita la identificación de efectos específicos de los ácidos grasos trans C18, sin interferencias metabólicas preexistentes [23]. Asimismo, esta cepa se considera óptima para estudios de conducta, ya que muestra mayor capacidad de aprendizaje y adaptación a tareas de entrenamiento que otras cepas como C57BL/6 [24, 25].

Los animales fueron alojados de forma individual bajo condiciones estandarizadas (ciclos luz/oscuridad de 12 horas, temperatura de 25 °C y agua *ad libitum*). Se les otorgó un periodo de aclimatación de cinco días antes del inicio de los tratamientos. Las evaluaciones del bienestar animal (alimentación, peso corporal, actividad y estado general) se realizaron diariamente por personal capacitado. La asignación a los grupos experimentales se efectuó de forma aleatoria y ciega utilizando listas generadas con la función RAND de Microsoft Excel. Todos los ratones se asignaron al azar y de manera ciega en los grupos necesarios para cada experimento y no se efectuó ningún orden específico para ninguno de los procedimientos. Todos los procedimientos de manejo de animales fueron aprobados por el comité de bioética de la UASLP (UASLP-Biociencias CB-2016-005).

3.1.1. Determinación de la dosis experimental

La dosis inicial se basó en el consumo medio de ácidos grasos trans reportado en la población estadounidense (5 g/día para un peso promedio de 90 kg) [26, 27, 28], lo cual equivale a 56 mg/kg/día. Este valor fue corroborado con datos clínicos en humanos, donde se observó que una dosis de 4.14 g/día de TVA en hombres jóvenes (peso promedio de 76 kg) también corresponde a aproximadamente 55 mg/kg [29]. Estas cifras provienen de estudios previos a la

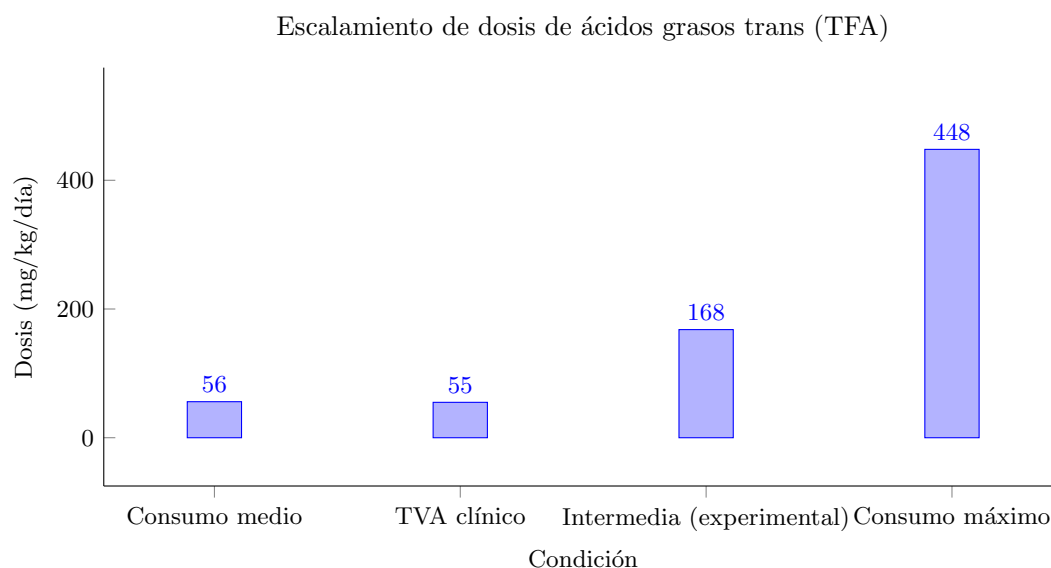


Figura 3.1: Escalamiento de dosis en función de datos poblacionales y clínicos. La dosis intermedia experimental (168 mg/kg) se eligió como la dosis representativa para este trabajo, ya que cubre el rango entre el consumo medio y el máximo reportado en humanos. La figura representa un consumo medio de 56 mg/kg/día (equivalente a 5 g/día en humanos de 90 kg), 55 mg/kg (4.14 g/día en hombres de 76 kg) una dosis intermedia de 168 mg/kg (usada en los experimentos) con un consumo máximo estimado: 448 mg/kg (29 g/día)

prohibición del uso de CPHO y antes de que se implementara el etiquetado obligatorio de TFA en EUA. [30].

Con base en lo anterior, se eligió 56 mg/kg como dosis inicial, la cual se duplicó secuencialmente hasta alcanzar 448 mg/kg, cubriendo así el rango de consumo máximo estimado (29 g/día o 325 mg/kg). Para las pruebas principales, se utilizó una dosis intermedia de 168 mg/kg, administrada en los tres tratamientos: TEA, TVA y COA. Dado que se ha demostrado que dietas hiperlipídicas inducen dislipidemia en un periodo de seis semanas [31], los tratamientos se aplicaron durante 45 días consecutivos. En la figura 3.1 se ilustra este procedimiento.

3.1.2. Administración de los tratamientos

Para garantizar la administración completa de la dosis, los ácidos grasos se mezclaron con 1.2 g de croquetas estándar (Rodent Chow 5001, Purina; 3.3 kcal/g, 24.1 % proteína, 5 % grasa total, 1.5 % ácidos grasos monoinsaturados, 1.41 % ácidos saturados y 201 ppm colesterol). Cada ácido graso se aplicó directamente dentro de una cavidad previamente realizada en la croqueta, utilizando una herramienta rotatoria con una punta esférica de 2.3 mm. Las soluciones se dosificaron según el peso individual del animal, empleando un volumen de $0.336 \mu\text{l}$ de etanol por gramo de peso corporal.

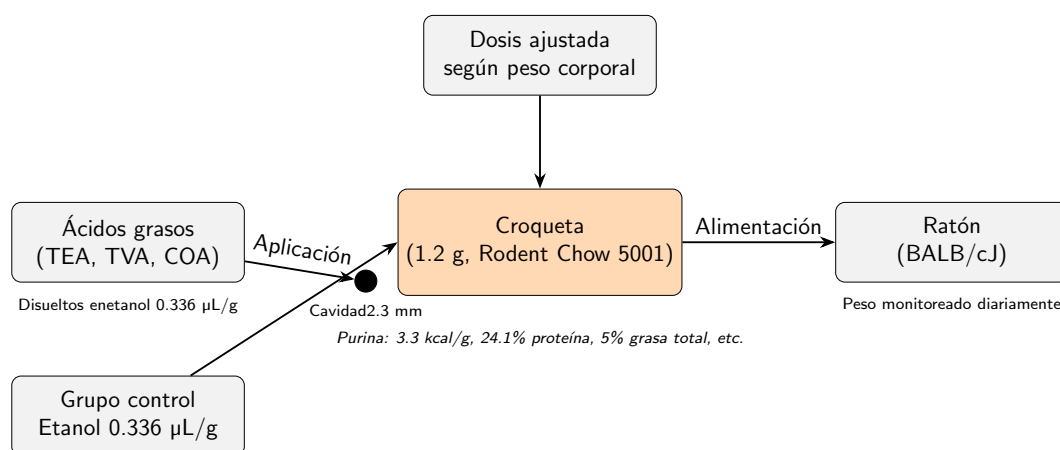


Figura 3.2: Ilustración de la administración de la dosis. La figura representa el diseño experimental descrito en el texto.

Se eligió 1.2 g de croqueta porque representa la cantidad mínima necesaria para mantener el peso corporal en condiciones de laboratorio estándar, y así asegurar que los animales consuman la dosis completa. El peso de cada ratón fue registrado diariamente para ajustar la dosis con precisión. No se observaron pérdidas de peso significativas durante el tratamiento. Los animales del grupo control recibieron la misma cantidad de vehículo (etanol, $0.336 \mu\text{l/g}$), aplicado sobre la misma cantidad de croqueta, pero sin adición de

ácidos grasos. Una ilustración de este procedimiento se muestra en la figura 3.2.

3.2. Procedimiento de Aprendizaje Apetitivo

Los ratones fueron alimentados diariamente durante 45 días con 1.2 g de croquetas mezcladas con su respectiva dosis de ácidos grasos, y posteriormente se les sometió a una tarea de aprendizaje apetitivo utilizando un laberinto de múltiples elecciones con ocho brazos (*eight-arm maze*) ligeramente intrincado. Este tipo de laberinto es una herramienta ampliamente utilizada en estudios de neurociencia cognitiva para evaluar memoria espacial, motivación y habilidades de navegación [32, 33]. La figura 3.3, muestra esquemáticamente el laberinto de 8 brazos utilizado en los experimentos.

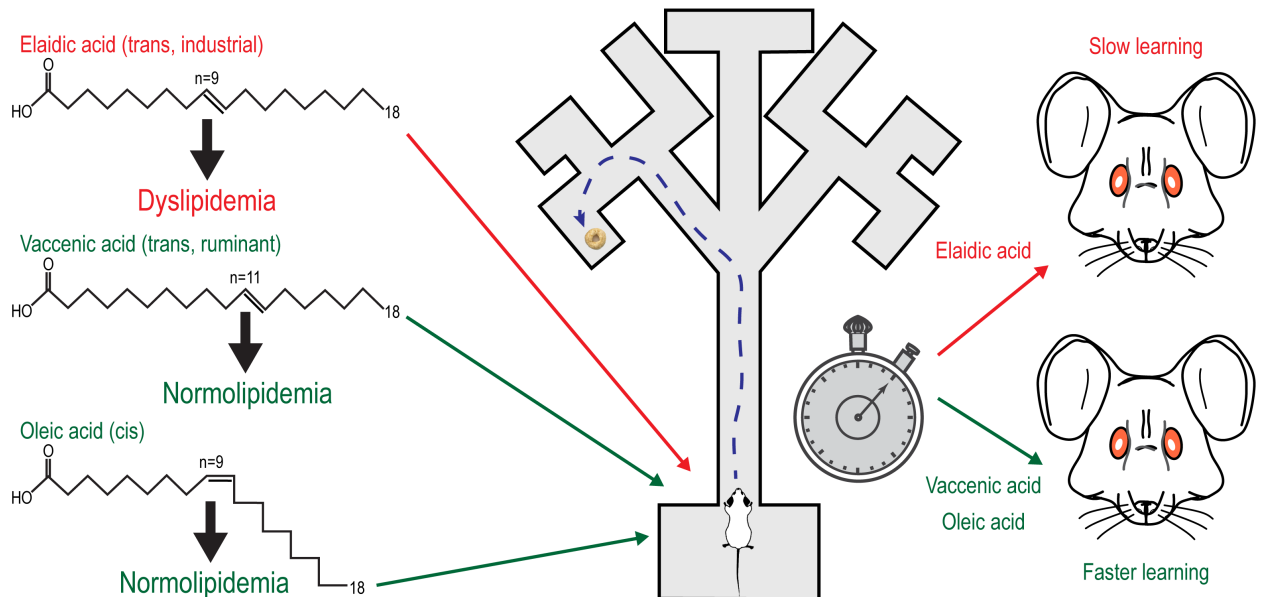


Figura 3.3: Ilustración esquemática del laberinto de 8 brazos utilizado para el estudio diferenciado de los efectos del consumo de ácidos grasos en el desempeño de la memoria de los ratones.

El laberinto consistía en caminos de 10 cm de ancho, con los extremos de los ocho brazos equidistantes desde el primer punto de

bifurcación. Esta simetría garantiza que el tiempo que cada ratón tarda en alcanzar la recompensa alimentaria no dependa de la posición del brazo que contiene el alimento, eliminando así un posible sesgo espacial.

Durante los días 25 al 27 del protocolo experimental, los ratones fueron habituados al laberinto mediante dos sesiones diarias de 20 minutos cada una, separadas por un intervalo de 30 minutos. En los días 28 a 30 y nuevamente en los días 43 a 45, los ratones fueron colocados en el laberinto con el objetivo de encontrar una croqueta colocada al final de uno de los brazos. Una vez que el animal encontraba la croqueta, se le permitía consumirla durante 5 segundos antes de ser retirado del laberinto. Este procedimiento de entrenamiento se repetía 30 minutos más tarde. Al finalizar cada día de entrenamiento, la dosis diaria restringida de 1.2 g de croquetas con ácidos grasos era administrada en su jaula individual.

Los ratones que no exploraban el laberinto o tardaban más de 20 minutos en localizar el alimento fueron considerados como no ejecutores (*nonperformers*) y excluidos del análisis. De igual manera, aquellos que encontraban el alimento pero lo ignoraban eran descartados, ya que ésto se interpretaba como una respuesta no relacionada con la recompensa.

El tiempo que cada ratón tardaba en alcanzar la recompensa fue registrado y graficado para evaluar su desempeño. Con el fin de evitar sesgos, el experimentador que administraba los ácidos grasos nunca participó como observador durante la tarea conductual.

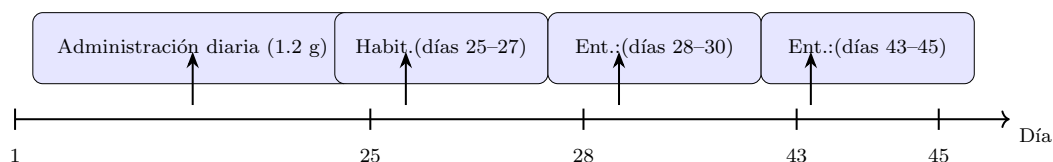


Figura 3.4: Ilustración esquemática del protocolo experimental utilizado en el aprendizaje apetitivo.

Desde el punto de vista neurobiológico, la capacidad de los ratones para aprender la ubicación de una recompensa apetitiva implica el uso de memoria espacial (forma de memoria declarativa), la integración de trayectorias (forma de memoria episódica) y una adecuada motivación. Para facilitar este proceso, cada bifurcación del laberinto fue señalizada con claves visuales distintas, lo que permitía a los animales utilizar referencias espaciales externas para orientarse, en concordancia con los principios de navegación alo-céntrica [34, 35].

Dado que la ubicación de la recompensa se mantuvo constante para cada ratón entre ensayos, esta tarea evalúa principalmente la componente de memoria espacial asociada al hipocampo, una región cerebral clave en el procesamiento de información espacial y en la formación de recuerdos relacionados con el entorno [36, 37]. En la figura 3.4 se ilustra el procedimiento utilizado en el aprendizaje apetitivo.

3.3. Perfiles Lipídicos en Suero

Los lípidos constituyen un grupo diverso de compuestos con funciones biológicas fundamentales. Participan de manera crucial en la estructura y funcionamiento de las células, actuando como componentes estructurales de las membranas, reservas de energía y mediadores en rutas de señalización celular [38]. El término *lípi-do* se define ampliamente como cualquier molécula de un grupo de compuestos orgánicos insolubles en agua pero solubles en solventes orgánicos. Esta característica química se encuentra en una amplia variedad de moléculas como los ácidos grasos, fosfolípidos, esteroides, esfingolípidos, terpenos y otros compuestos afines [39].

Los ácidos grasos (AG) están formados por cadenas hidrocarbonadas con un grupo metilo (CH_3) en un extremo y un grupo carbo-

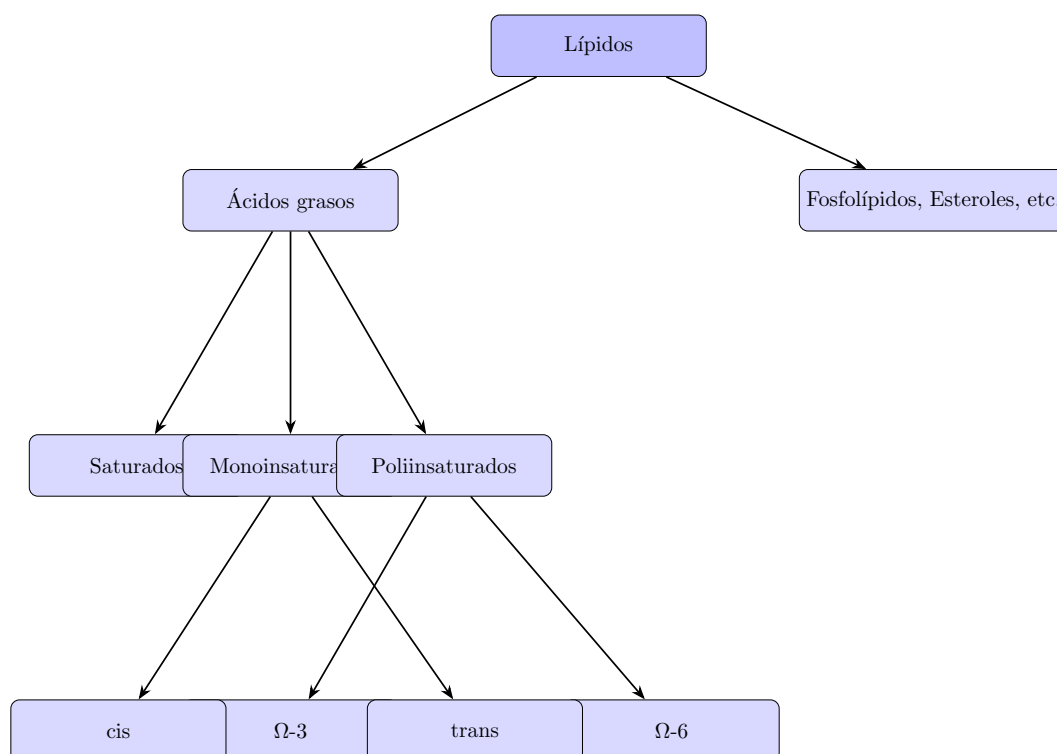


Figura 3.5: Ilustración esquemática de la relación entre los diferentes tipos de lípidos. Se muestra también la clasificación de los ácidos grasos según su grado de saturación y configuración *cis/trans*.

xilo (COOH) en el otro. Dependiendo del tipo de enlaces, pueden clasificarse en saturados (AGS), monoinsaturados (AGM), con un doble enlace o poliinsaturados (AGP), con dos o más dobles enlaces. Generalmente, los AG derivan de triglicéridos y fosfolípidos, y constituyen el componente principal de las grasas dietéticas [40]. En los AGP, el número, posición y configuración *cis/trans* de los dobles enlaces influyen significativamente en la fluidez de las membranas y en la función celular. El primer carbono del grupo metilo se conoce como ω ; según la posición del primer doble enlace respecto a este carbono, los AGP se clasifican como ω -3 (n-3), ω -6 (n-6) o ω -9 (n-9) [41]. Los AG pueden derivar tanto de fuentes animales como vegetales. El ω -9 más abundante, el ácido oleico (C18:1 n-9), proviene principalmente del aceite de oliva. Por su parte, el ácido li-

noleico (C18:2 n-6), un ω -6, se encuentra en altas concentraciones en aceites de cártamo, girasol, algodón y soya [42].

Existen tres fuentes principales de AG n-3: el ácido α -linolénico (C18:3 n-3), el ácido eicosapentaenoico (EPA); C20:5 n-3 y el ácido docosahexaenoico (DHA); C22:6 n-3. Los AG esenciales, como el linoleico y el linolénico, no pueden ser sintetizados por el cuerpo humano y deben obtenerse a través de la dieta [41]. Los AG insaturados pueden encontrarse en formas isoméricas *cis* o *trans*. En los AG *cis*, los grupos funcionales similares están dispuestos del mismo lado del doble enlace, lo que proporciona flexibilidad a las membranas y a los triacilglicéridos. Por el contrario, en los AG *trans*, los átomos de hidrógeno se encuentran en lados opuestos, lo que afecta la estructura y funcionalidad lipídica [43]. Muchos AG *cis* actúan como precursores de eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos), mediadores clave en procesos inflamatorios. Los AG palmitoleico y oleico son los AG *cis* más abundantes en animales y pueden ser sintetizados a partir de sus respectivos AG saturados mediante la acción de desaturasas [44].

En lo que sigue, se describe el procedimiento para obtener los perfiles lipídicos. Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción cardíaca terminal bajo anestesia general con isoflurano, procedimiento que minimiza el sufrimiento animal y permite la recolección de volúmenes adecuados para el análisis bioquímico [45]. Inmediatamente después de la extracción, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos a 4 °C para separar el suero, el cual fue recolectado cuidadosamente y almacenado a -80 °C hasta su análisis.

Con el objetivo de evitar cualquier sesgo experimental, la determinación de los perfiles lipídicos séricos se realizó de forma ciega: el experimentador no conocía la identidad del grupo ni la dosis administrada a cada animal hasta concluir el análisis y graficado de

los resultados. Este enfoque garantiza la objetividad en la interpretación de los datos [46].

Los perfiles lipídicos se determinaron mediante ensayos colorimétricos utilizando los siguientes kits comerciales de Sigma-Aldrich, siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante: (1) *Cholesterol Quantification Assay Kit* (cat#CS0005) para la medición de colesterol total, (2) *HDL and LDL/VLDL Quantitation Kit* (cat#MAK045) para la determinación diferencial de lipoproteínas de HDL y de LDL/VLDL, y (3) *Triglyceride Quantification Colorimetric Kit* (cat#MAK266) para la cuantificación de triglicéridos.

Estos ensayos se basan en reacciones enzimáticas específicas que generan productos coloreados cuya absorbancia se mide espectrofotométricamente. La absorbancia es directamente proporcional a la concentración del analito, lo que permite una cuantificación precisa y reproducible [47].

La evaluación de estos biomarcadores es fundamental para caracterizar alteraciones en el metabolismo lipídico, particularmente aquellas inducidas por el consumo de ácidos grasos trans, que se asocian con dislipidemias aterogénicas y riesgo cardiovascular [1, 48]. En la figura 3.6 se muestra el procedimiento experimental para el análisis de los biomarcadores.

3.4. Análisis Estadístico

Todos los datos reportados en este estudio fueron analizados utilizando el software *GraphPad Prism* versión 8.02 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). La unidad experimental utilizada fue el ratón individual, ya que esta estrategia permite maximizar la resolución estadística de los efectos del tratamiento a nivel comportamental y metabólico.

El tamaño mínimo de muestra necesario para los experimen-

tos de grupos múltiples fue calculado empleando la función *power.anova.test* del entorno estadístico R (versión 4.2.0). Se utilizó un nivel de significancia $\alpha = 0.05$, una potencia estadística (power) de 0.8 y un tamaño de efecto grande ($f = 0.7$), de acuerdo con las recomendaciones para estudios con efectos biológicos medianos a grandes [49]. Bajo estos parámetros, se determinó que una muestra de 30 animales ($n = 30$) era adecuada para establecer la dosis de TEA necesaria para inducir dislipidemia, usando 5 grupos de dosificación (6 ratones en cada grupo). En la Figura 3.7 se muestra como se realizó el cálculo de tamaño de muestra mediante la función *power.anova.test* en R.

Para evaluar el efecto de los TFAs sobre los biomarcadores lipídicos séricos (ver Figura 4.2 en el capítulo de Resultados) y el desempeño en la tarea de aprendizaje apetitivo (ver Figura 4.3 en el capítulo de Resultados), se diseñó un experimento con 4 grupos (Control, COA, TEA y TVA), lo que resultó en un tamaño estimado de muestra de 27 ratones ($n = 27$). Este número se redondeó a 7 animales por grupo para facilitar la distribución experimental y asegurar potencia suficiente. El tamaño de muestra exacto utilizado en cada experimento se indica en las leyendas de cada figura junto con el poder estadístico calculado.

Las variables principales de resultado incluyeron: (i) los niveles de biomarcadores asociados al metabolismo lipídico (colesterol total, HDL, LDL/VLDL, triglicéridos) y (ii) el tiempo que tardaron los ratones en localizar la recompensa alimenticia en la tarea de memoria espacial.

A menos que se indique lo contrario, todos los gráficos se presentan como promedios con desviación estándar (media \pm DE) o como diagramas de caja y bigotes (*Box and Whisker plots*) que muestran la mediana, los valores mínimos y máximos, y los cuartiles inferior y superior.

El análisis de la progresión del aprendizaje se llevó a cabo uti-

lizando regresión lineal por mínimos cuadrados (*best-fit linear regression*) sobre los datos de los últimos 3 días del protocolo experimental. Este análisis permitió determinar en qué condición los ratones aprendieron más rápidamente, identificando el punto en el tiempo (en días) donde la proyección de la curva de aprendizaje intersectaba el eje $Y = 0$, como un estimador de la eficiencia del aprendizaje.

La evaluación de la normalidad de los datos se realizó mediante la prueba de Shapiro-Wilk [50]. En los casos en los que se cumplía el supuesto de normalidad, se utilizó ANOVA de una vía con la prueba de comparación múltiple de Bonferroni. Cuando los datos no seguían una distribución normal, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con la corrección de comparaciones múltiples de Dunn [51].

Se consideraron estadísticamente significativos los valores de $p < 0.05$, sin realizar correcciones por comparaciones múltiples. La identificación de valores atípicos se realizó mediante el procedimiento iterativo de Grubbs, implementado en Prism (versión 8.02), aunque no se identificaron *outliers* en los conjuntos de datos analizados.

No se aplicaron análisis estadísticos específicos para controlar factores de confusión, ya que estos fueron controlados mediante la aleatorización de los animales, emparejamiento por edad y restricción del sexo (todos los ratones fueron machos). Ningún procedimiento experimental se asignó en un orden particular.

Cabe destacar que este estudio no fue preregistrado, sin embargo, todas las hipótesis, métodos, análisis y estrategias de cegamiento fueron establecidas antes del inicio formal del estudio, garantizando la transparencia y validez de los resultados obtenidos.

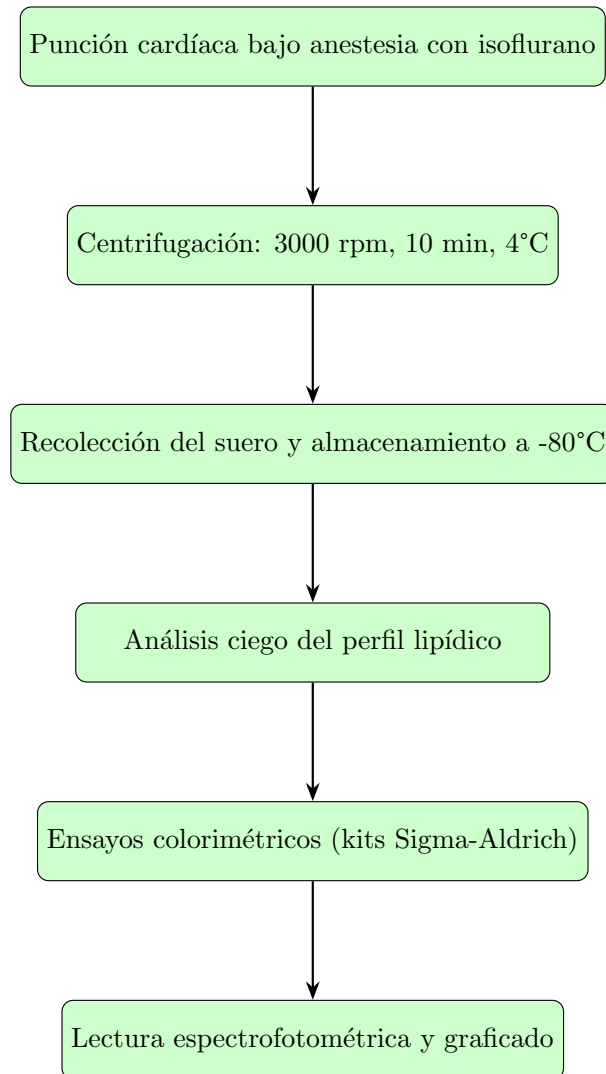


Figura 3.6: Ilustración esquemática del procedimiento experimental desde la recolección de la muestra hasta el análisis de biomarcadores.

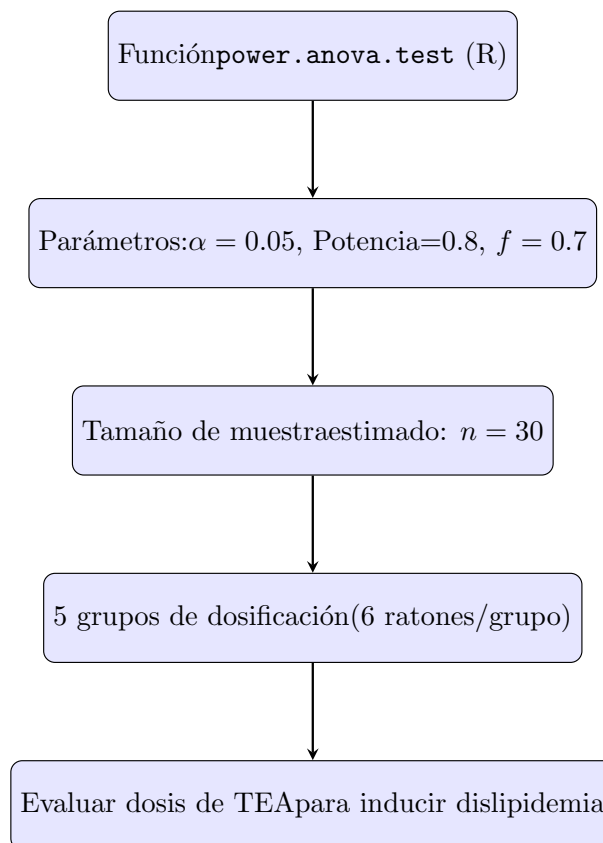


Figura 3.7: Ilustración del cálculo de tamaño de muestra mediante la función *power.anova.test* en R. Se utilizaron parámetros estándar ($\alpha = 0.05$, potencia = 0.8, tamaño de efecto grande $f = 0.7$) para determinar un tamaño adecuado de muestra ($n = 30$) en un diseño de 5 grupos (6 ratones/grupo).

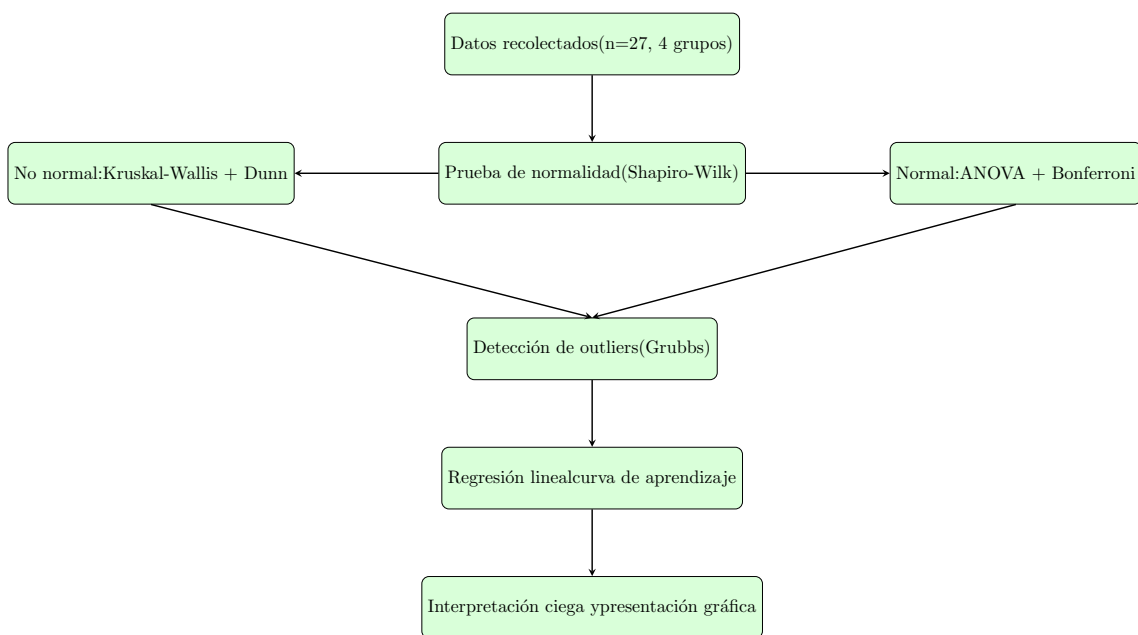


Figura 3.8: Diagrama de flujo del análisis estadístico realizado. Se aplicó una evaluación de normalidad (Shapiro-Wilk), seguida de ANOVA o pruebas no paramétricas según el caso. La progresión del aprendizaje se evaluó mediante regresión lineal, y la detección de valores atípicos se hizo con la prueba de Grubbs.

Capítulo 4

Resultados

En ésta sección se presentan los resultados de este trabajo utilizando el enfoque metodológico descrito en el capítulo 3. En la primera parte, se cuantifica el impacto diferencial de los ácidos grasos trans según su origen (industrial vs. rumiante) en el metabolismo lipídico. Posteriormente, se presentan y se discuten los resultados sobre la comparación de los efectos neurocognitivos de los ácidos grasos en la formación de la memoria apetitiva.

4.1. Impacto diferencial de los ácidos grasos trans según su origen (industrial vs. rumiante) en el metabolismo lipídico

Para determinar si existen diferencias significativas en los efectos sobre la salud entre el TEA y el TVA, los iTFAs y rTFAs más comunes en los alimentos, respectivamente, fue necesario establecer una dosis experimental comparable entre ambos compuestos. Por ello, se diseñó primero una curva dosis-respuesta administrando TEA diariamente durante 45 días, con el objetivo de identificar la dosis óptima para inducir dislipidemia en un modelo murino. La dosis inicial seleccionada fue de 56 mg/kg de peso corporal, equivalente al consumo diario de 5 g de TFA en un adulto promedio

de 90 kg en EE.UU.[28]. Esta dosis fue duplicada progresivamente hasta alcanzar 448 mg/kg para cubrir un rango más amplio de exposición.

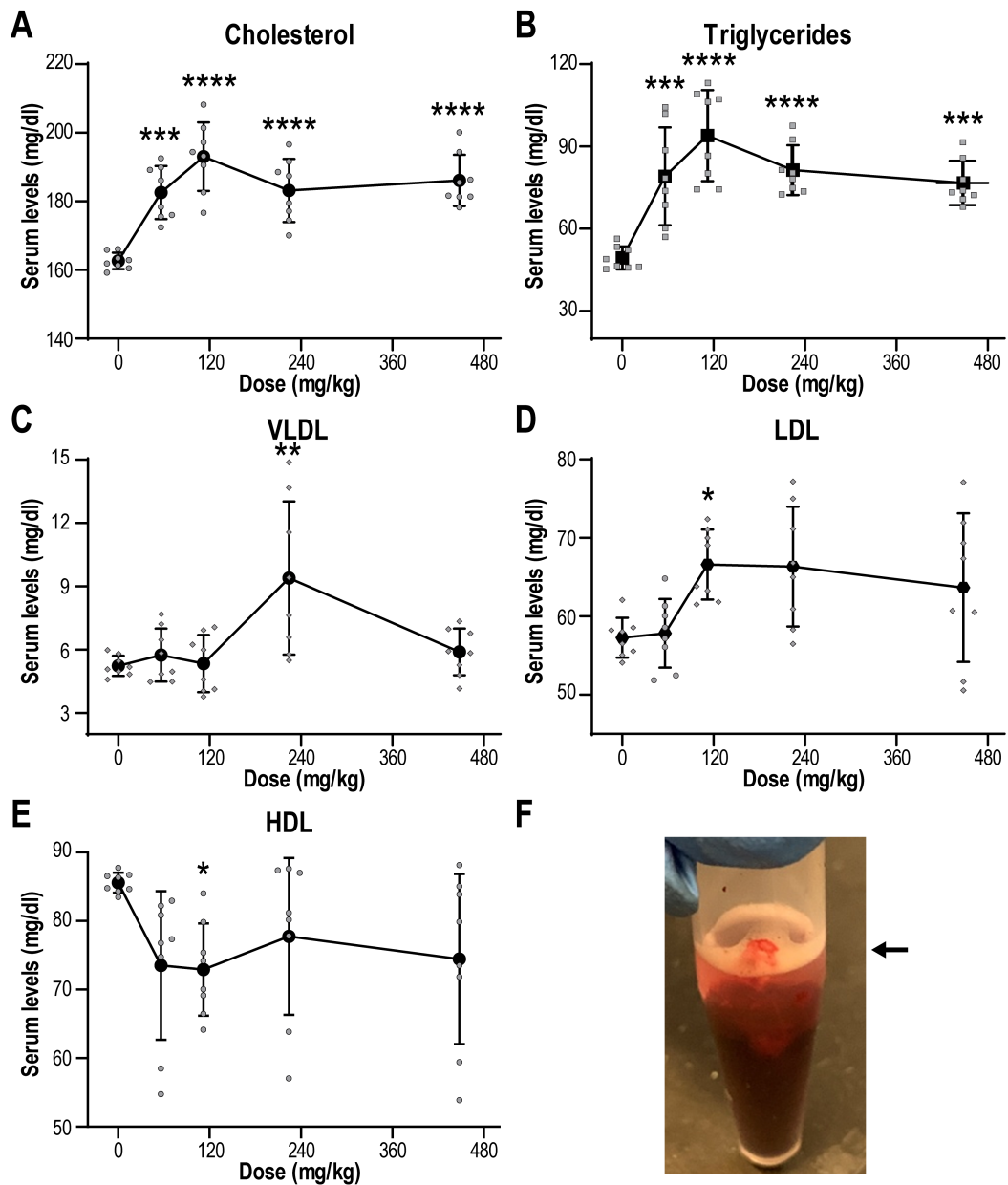


Figura 4.1: Efectos de la dosis de ácido trans-elaídico sobre el metabolismo lipídico. Una descripción más detallada de cómo se obtuvieron los resultados, se muestra en el texto.

En la Figura 4.1, se muestran los resultados obtenidos de los

efectos de los ácidos trans-elaídicos suministrados a los ratones en el metabolismo lipídico. Los detalles de como se obtuvieron los resultados son descritos a continuación. Se administró diariamente ácido trans-elaídico a ratones con dosis de 0, 56, 112, 224 o 448 mg/kg de peso corporal durante 45 días. Al finalizar el tratamiento (día 45), se obtuvieron muestras de suero mediante punciónn cardíaca y posterior centrifugación. Los niveles séricos de Colesterol **(A)**, Triglicéridos **(B)**, Lipoproteína de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en inglés) **(C)**, Lipoproteína de baja densidad (LDL) **(D)** y Lipoproteína de alta densidad (HDL) **(E)**, como marcadores del metabolismo lipídico. Las diferencias estadísticas se analizaron mediante un ANOVA de una vía con prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$; ****, $p < 0.0001$ con respecto a la dosis control (0 mg/kg). La Figura 4.1 **(F)** corresponde a una imagen representativa de una muestra de sangre después de la centrifugación en un microtubo. La muestra corresponde a un ratón alimentado con 112 mg/kg de ácido elaídico. La flecha indica la posición del anillo superior blanco lechoso, característico de la lipemia. Las barras en las gráficas representan el valor medio con desviación estándar de 4 experimentos independientes, utilizando 10 ratones por experimento ($n = 40$ en total, potencia estadística calculada = 0.931). En cada experimento se incluyeron 2 ratones por grupo, resultando en 8 ratones por grupo en total.

En la Figura 4.1 **(A)** y Figura 4.1 **(B)**, podemos observar que desde valores de 56 mg/kg existen aumentos significativos en los niveles séricos de colesterol total y triglicéridos en comparación con los ratones del grupo control ($p = 0.0001$ en ambos casos). Note que el efecto máximo se registró con una dosis de 112 mg/kg. Esto demuestra la sensibilidad de los niveles séricos del colesterol cuando se ingieren ácidos elaídicos.

En lo que respecta a las fracciones lipídicas, el comportamien-

to como función de la dosis suministrada fue un poco diferente. El nivel de LDL aumentó significativamente a partir de los 112 mg/kg [$p = 0.0493$; figura 4.1 **(D)**], mientras que VLDL mostró un incremento notorio con 224 mg/kg [$p = 0.0011$; figura 4.1 **(C)**]. Por otro lado los niveles de HDL, la lipoproteína con función protectora cardiovascular, disminuyeron significativamente a una dosis de 112 mg/kg [$p = 0.0178$; figura 4.1 **(E)**]. De forma notable, las muestras de sangre obtenidas de ratones alimentados diariamente con dosis iguales o superiores a 112 mg/kg de TEA mostraron una fase superior blanquecina tras la centrifugación [Fig. 4.1 **(F)**], signo característico de lipemia severa. Esta dosis corresponde, en humanos, a un consumo de 10 g/día en un varón de 90 kg.

Nótese que, dado que los efectos máximos del TEA sobre el metabolismo lipídico se observaron entre 112 y 224 mg/kg, se eligió una dosis intermedia de 168 mg/kg para los experimentos comparativos posteriores. Esta dosis equivale al consumo diario de aproximadamente 15 g de TFA en humanos.

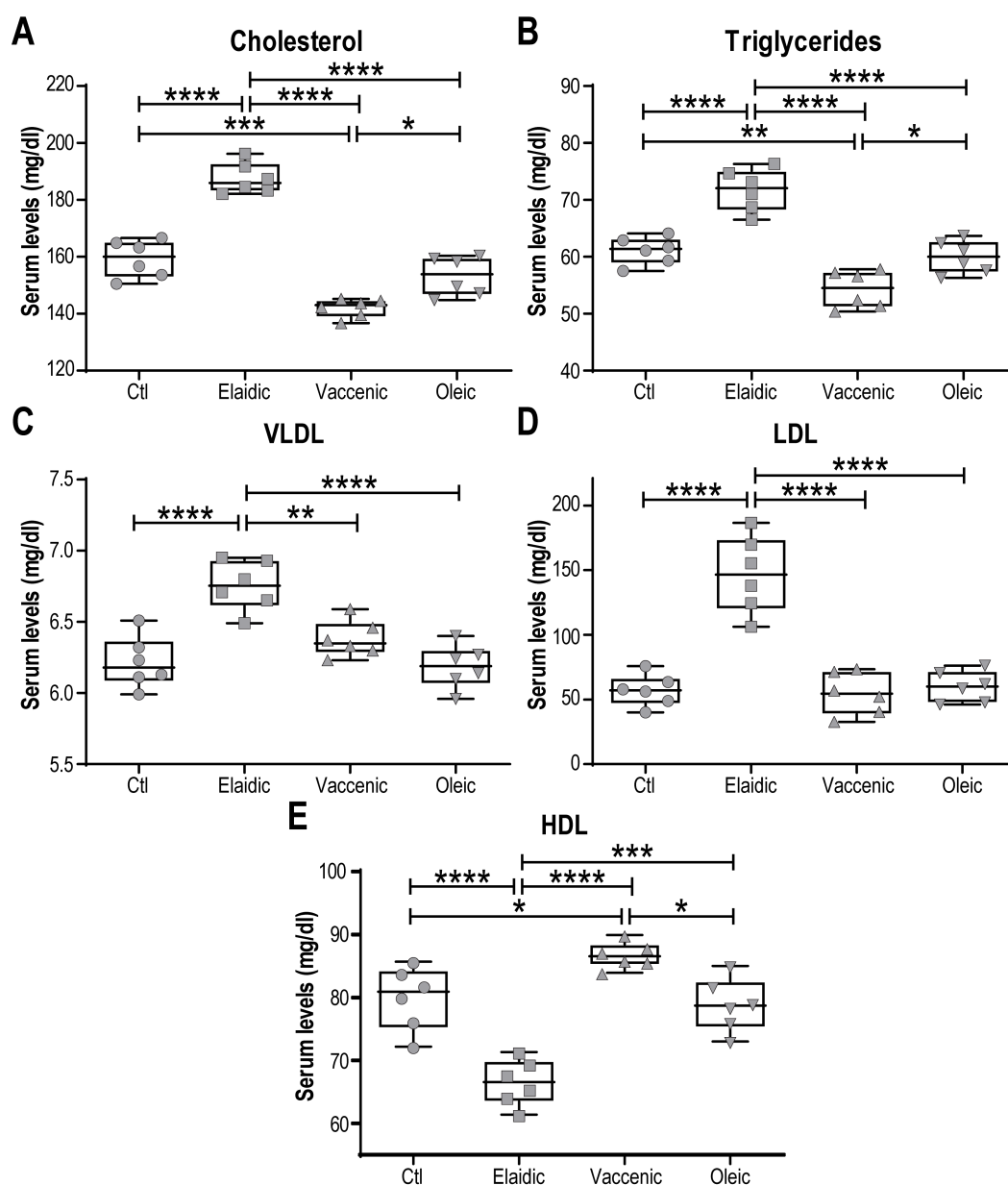


Figura 4.2: Comparación de los efectos del ácido trans-elaídico con respecto al ácido trans-vaccénico y al ácido oleico cis sobre el metabolismo lipídico

Con el objetivo de profundizar en el análisis, en la Figura 4.2 se comparan los efectos del ácido trans-elaídico, trans-vaccénico y del ácido oleico cis sobre el metabolismo lipídico, empleando la dosis intermedia de 168 mg/kg como referencia. Los detalles técnicos de los resultados mostrados en la Figura 4.2, se describen a conti-

nuación. Los ratones fueron alimentados durante 45 días con 168 mg/kg de peso corporal mientras que los ratones del grupo control (Ctl) recibieron únicamente el vehículo. En el día 45, se realizó una punción cardíaca seguida de centrifugación para obtener muestras de suero, las cuales se utilizaron para determinar los niveles de Colesterol (**A**), Triglicéridos (**B**), VLDL (**C**), LDL (**D**) y HDL (**E**). Las gráficas muestran diagramas de caja y bigotes (Box and Whisker Plots), representando la mediana con los cuartiles inferior y superior (cajas), y los valores mínimos y máximos (líneas de error), correspondientes a 3 experimentos independientes con 2 ratones por grupo en cada experimento (6 ratones por grupo en total, $n = 24$, potencia estadística calculada = 0.75). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía con prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$; ****, $p < 0.0001$.

Como se observa en la Figura 4.2, los ratones que recibieron TVA mostraron efectos opuestos y beneficiosos en comparación con los que recibieron TEA. Se registraron disminuciones significativas en los niveles séricos de colesterol total ($p < 0.0001$), triglicéridos ($p < 0.0001$), VLDL ($p = 0.0039$) y LDL ($p < 0.0001$), junto con un aumento en HDL ($p < 0.0001$). Estos resultados sugieren que, a pesar de ser ambos TFA, TEA y TVA no producen los mismos efectos fisiopatológicos, lo que refuerza la necesidad de distinguir entre fuentes industriales y naturales de estos compuestos en la evaluación de riesgos nutricionales.

Además, se observó que los ratones alimentados con COA, un ácido graso monoinsaturado C18 en configuración *cis* abundante en el aceite de oliva y de canola, también presentaron mejoras significativas en su perfil lipídico en comparación con los ratones que consumieron TEA ($p < 0.0001$ para colesterol, triglicéridos, VLDL y LDL; $p = 0.001$ para HDL). De forma destacada, ningún ratón alimentado con TVA mostró signos visibles de lipemia en las muestras

de sangre.

Finalmente, en comparación con el grupo control, el consumo de TVA mostró beneficios adicionales: los niveles séricos de colesterol ($p = 0.002$) y triglicéridos ($p = 0.0067$) fueron significativamente menores, mientras que los niveles de HDL fueron significativamente mayores ($p = 0.0397$), lo que refuerza la hipótesis de que algunos rTFA podrían, incluso, llegar a tener propiedades protectoras.

Uno puede concluir que los resultados obtenidos en este estudio experimental demuestran que el TEA y el TVA, a pesar de ser ambos ácidos grasos trans, ejercen efectos profundamente distintos sobre el metabolismo lipídico en ratones. El TEA, representativo de los TFA de origen industrial, indujo dislipidemia severa, caracterizada por aumentos significativos en colesterol total, triglicéridos, LDL y VLDL, y una reducción marcada en HDL. Estos efectos fueron evidentes desde una dosis de 56 mg/kg, con una expresión máxima entre 112 y 224 mg/kg, dosis en las que incluso se observaron signos visibles de lipemia. En contraste, el TVA, un TFA de origen rumiante, produjo efectos opuestos y beneficiosos, mejorando de forma significativa el perfil lipídico de los animales: redujo los niveles de lípidos aterogénicos (colesterol total, LDL, VLDL y triglicéridos) y elevó los niveles de HDL. Estos efectos fueron incluso más favorables que los del grupo control. Resultados similares se observaron con COA, un ácido graso *cis* monoinsaturado. Estos hallazgos sustentan la hipótesis de que el impacto metabólico de los TFA no puede generalizarse sin distinguir su origen, y que algunos rTFA como el TVA podrían tener incluso propiedades cardioprotectoras. Por tanto, las políticas de salud pública deberían considerar clasificar diferencialmente a los TFA en función de su origen y efectos fisiológicos.

4.2. Comparación de los efectos neurocognitivos de los ácidos grasos trans industriales y ruminantes en la formación de la memoria apetitiva

La capacidad para aprender la ubicación de una recompensa alimentaria, conocida como *memoria apetitiva*, depende tanto de la memoria episódica como de la memoria espacial, funciones clave asociadas a la región CA1 del hipocampo [22]. Diversos estudios han mostrado que el hipocampo es especialmente vulnerable al consumo elevado de TFAs, particularmente los de origen industrial [9, 10]. Por esta razón, se planteó evaluar si la ingesta de TEA o TVA afecta de forma diferencial el desempeño de ratones en una tarea de aprendizaje basada en recompensa, utilizando un laberinto de ocho brazos con múltiples elecciones (*eight-arm maze*). Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.3. Los detalles técnicos de como se obtuvieron los resultados se describen a continuación.

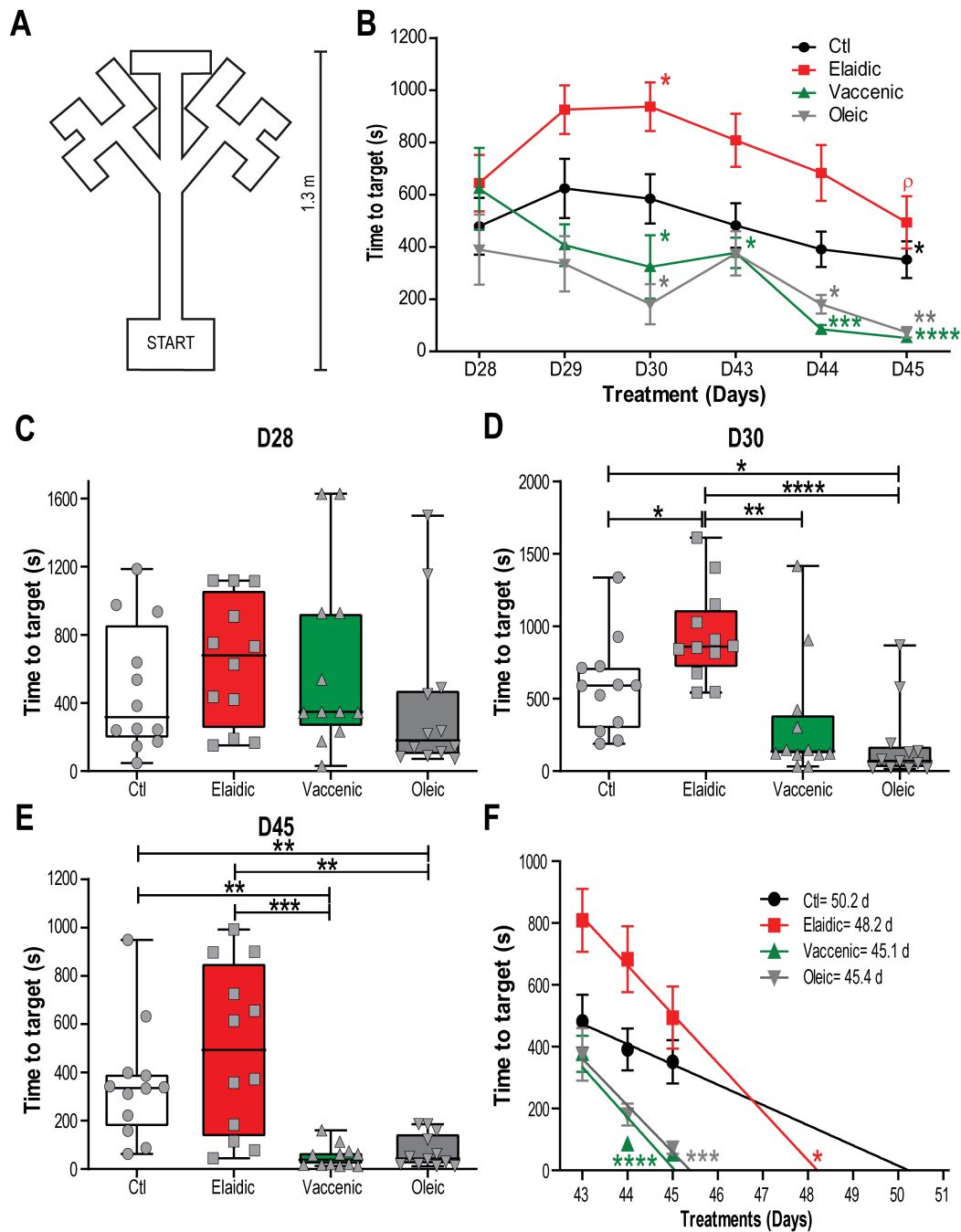


Figura 4.3: Efectos en la memoria debido a la administración de los ácidos trans-eláídico, ácido trans-vaccénico y ácido oleico cis. Como referencia, también se muestran los resultados de los ratones de control.

Con la finalidad de demostrar que la alimentación con TEA retrasa la formación de la memoria en comparación con TVA se utilizó el

siguiente procedimiento. Ratones control (Ctl, tratados con vehículo, en negro) y ratones alimentados durante 45 días con 168 mg/kg de peso corporal (TEA en rojo, TVA en verde y COA en gris) fueron sometidos a una tarea de aprendizaje apetitivo, en la cual debían localizar y consumir una recompensa alimenticia (0.5 g) colocada al final de uno de los 8 brazos de un laberinto ligeramente intrincado Figura 4.3 (A). Los ratones fueron habituados entre los días 25 y 27. La progresión del aprendizaje se evaluó permitiendo que los animales buscaran la recompensa en dos sesiones diarias de 20 minutos durante los días 28 al 30, y nuevamente entre los días 43 y 45. Se registró y graficó el tiempo (en segundos) que tardaban los ratones en ir desde el inicio del laberinto (START) hasta alcanzar y morder la recompensa, Figura 4.3(B). En Figs. 4.3 (C), (D) y (E) se presentan análisis detallados mediante diagramas de caja y bigotes (Box and Whisker Plots) del tiempo utilizado por los ratones durante el primer día de entrenamiento (*ratones naïve*, día 28), tras tres días de entrenamiento (día 30) y en el día 45, respectivamente. La Figura 4.3 (F) representa los ajustes lineales múltiples por regresión lineal con mejor ajuste, utilizando los datos obtenidos entre los días 43 y 45 para cada grupo. Esta regresión estima el rendimiento probable a lo largo del tiempo, considerando que un valor de intersección con $Y = 0$ en menor tiempo indica un mejor desempeño en la tarea. Todas las gráficas representan resultados obtenidos con 12 ratones por grupo ($n = 48$, potencia estadística calculada = 0,983). Las gráficas en Figura 4.3 (B) y (F) muestran el promedio con error estándar de la media (SEM). Los asteriscos en Figura 4.3 (B) indican diferencias significativas con respecto a los valores iniciales del mismo grupo (día 28), determinadas mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con prueba *post hoc* de comparaciones múltiples de Dunn, ya que los datos constituyen un conjunto continuo. La letra *r* en Figura 4.3 (B) indica una diferencia significativa entre los datos del día 30 y los del día 45. Las

Figuras 4.3 **(C)–(E)** muestran diagramas de caja y bigotes que representan la mediana (línea central), los cuartiles inferior y superior (cajas), y los valores mínimos y máximos (bigotes) en los días seleccionados para el análisis. El análisis estadístico en Figuras 4.3 **(C)–(E)** se realizó con la prueba de Kruskal-Wallis y prueba *post hoc* de comparaciones múltiples de Dunn. *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$; ****, $p < 0.0001$.

Los resultados de la Figura 4.3 ilustran la evolución del aprendizaje bajo tratamiento con TEA, TVA o COA. Se aplicaron dos sesiones diarias de entrenamiento (con un intervalo de 30 minutos) en dos bloques temporales: días 28 a 30 y días 43 a 45, precedidos de una fase de habituación del día 25 al 27 (Figura 4.3 **(B)–(E)**).

Durante la primera sesión de evaluación (día 28), los *ratones naïve* (sin entrenamiento previo) tardaron en promedio 534.1 ± 442.8 s (DE) en encontrar la recompensa. Como era de esperarse, no se observaron diferencias significativas entre el grupo control y los grupos tratados con TEA, TVA o COA [Figura 4.3 **(C)**]. Sin embargo, al finalizar el primer bloque de entrenamiento (día 30), se evidenciaron cambios marcados: los ratones control tardaron en promedio 584.6 ± 327 s, mientras que los tratados con COA mejoraron significativamente su desempeño (181.1 ± 266 s, $p = 0.0184$). En contraste, los tratados con TEA mostraron un deterioro notorio en su rendimiento (937.1 ± 322 s, $p = 0.0379$) [Figura 4.3 **(D)**]. Aunque los ratones tratados con TVA no presentaron una diferencia significativa respecto al grupo control ese día, sí se observaron diferencias significativas al compararlos con los tratados con TEA ($p = 0.0048$ para TVA y $p < 0.0001$ para COA) [Figura 4.3 **(B)** y Figura 4.3 **(D)**].

Para analizar la progresión del aprendizaje a largo plazo, la tarea se repitió al final del protocolo de alimentación (día 45). Los resultados fueron claros: en comparación con los controles (369.6 ± 105.9 s), los grupos que recibieron TVA (51.9 ± 46.4 s, $p = 0.0048$) y COA (73.7 ± 68.7 s, $p = 0.0048$) mostraron una mejora significativa en el

tiempo para encontrar la recompensa (Figura 4.3 **(E)**). Por otro lado, el grupo tratado con TEA (494.2 ± 346.4 s) no mostró diferencias significativas frente al control, pero sí fue estadísticamente peor que TVA ($p = 0.0004$) y COA ($p = 0.0022$).

Finalmente, se evaluó la progresión del aprendizaje mediante un análisis de regresión lineal ajustada a los datos de los días 43 a 45. Este modelo permitió predecir en qué momento los ratones de cada grupo alcanzarían un rendimiento óptimo (intersección con el eje $Y = 0$). Los resultados fueron reveladores: el grupo control alcanzaría este punto a los 50.2 días, el grupo TEA a los 48.2 días ($p = 0.0353$), mientras que los grupos TVA y COA lo harían más rápidamente, a los 45.1 días ($p < 0.0001$) y 45.4 días ($p = 0.0004$), respectivamente [Figura 4.3 **(F)**]. Esto confirma que, aunque el grupo TEA mostró cierta mejora tardía, el aprendizaje fue claramente más lento en comparación con los grupos tratados con ácidos grasos beneficiosos como el TVA y el COA.

En conclusión, los resultados del presente estudio indican que la ingesta de TEAs y TVAs ejerce efectos claramente diferenciados sobre el desempeño cognitivo de los ratones en una tarea de aprendizaje espacial basada en recompensa. Mientras que el TEA produjo un deterioro significativo en la memoria apetitiva a corto plazo, el TVA, al igual que el COA, mejoró de forma significativa el desempeño en esta tarea. Además, los análisis de progresión del aprendizaje revelaron que los animales tratados con TVA y COA aprendieron más rápidamente que aquellos tratados con TEA. Estos hallazgos respaldan la hipótesis, una vez más, de que no todos los ácidos grasos trans generan efectos dañinos sobre la función cognitiva y que el origen de los TFA (industrial vs. rumiante) juega un papel crucial en sus efectos neurobiológicos. Así, el presente trabajo aporta evidencia experimental relevante para comprender los mecanismos diferenciales de los TFA y apoya la necesidad de políticas de salud pública que distingan entre tipos de TFA al formular

recomendaciones dietéticas.

Capítulo 5

Discusión

Dado que la nutrición es uno de los principales factores que influyen en el rendimiento cognitivo, en este estudio nos interesamos por vincular los cambios metabólicos inducidos por la ingesta de ácidos grasos trans de 18 carbonos (TFA, C18) con el desempeño en tareas de aprendizaje apetitivo.

Utilizando ratones alimentados con los dos TFA más frecuentes en productos lácteos de origen humano, encontramos que el TEA, un TFA industrial, indujo dislipidemia y deterioró el rendimiento en el aprendizaje apetitivo. En cambio, el TVA, un TFA de origen rumiante, mejoró los niveles séricos de algunos biomarcadores del metabolismo lipídico y también mejoró el desempeño de los ratones en la tarea de aprendizaje.

Nuestros hallazgos respaldan aún más la noción de que los rTFA tienen efectos significativamente opuestos y más saludables que los iTFA. Aunque esto puede parecer contraintuitivo, dado que los rTFA siguen siendo ácidos grasos trans y, por tanto, tradicionalmente considerados como lípidos perjudiciales, su ingesta ha sido asociada con efectos beneficiosos en enfermedades como la diabetes tipo 2, obesidad, cáncer y aterogénesis [13, 52, 53].

De hecho, a pesar de que el TVA es un rTFA, se ha demostrado que su consumo protege contra la enfermedad coronaria y la inflamación intestinal [18, 19, 20]. Además, se ha reportado que

la ingesta de TVA mejora tanto la respuesta inmunitaria antitumoral mediada por células T como el metabolismo lipídico posprandial [21, 54].

La pregunta de si los iTFA y los rTFA ejercen efectos biológicos similares u opuestos se ha vuelto particularmente relevante desde que la prohibición de los iTFA dejó a los rTFA, y en particular al TVA, como los TFA predominantes en la dieta humana. Sin embargo, existen muy pocos estudios que evalúen directamente los efectos biológicos opuestos entre el TEA y el TVA.

Por ejemplo, en ratones deficientes en receptores de LDL, la ingesta de TEA estimula la aterosclerosis, mientras que el TVA ejerce un efecto protector [19]. En línea con esto, se ha demostrado que el TEA potencia las respuestas inflamatorias de las células endoteliales en cultivo, un mecanismo subyacente a la aterosclerosis, mientras que el TVA las inhibe [55].

Utilizando hámsteres dorados sirios, se reportó que el TEA y el TVA tienen efectos opuestos sobre la razón LDL/HDL y sobre la incorporación en la posición *sn*-2 de los fosfolípidos plaquetarios [56]. Asimismo, la alimentación de ratas JCR:LA-cp resistentes a la insulina con TVA redujo los niveles séricos de triglicéridos [57].

Nuestros resultados demuestran que no todos los ácidos grasos trans ejercen efectos nocivos sobre la salud. El TEA induce dislipidemia y deterioro cognitivo, mientras que el TVA mejora indicadores lipídicos y promueve el aprendizaje. Estos hallazgos no solo refuerzan la importancia de diferenciar entre tipos de TFA en la dieta, sino que también abren la posibilidad de que algunos rTFA, como el TVA, tengan aplicaciones terapéuticas en enfermedades metabólicas y neurocognitivas.

5.1. Déficits vasculares y energéticos podrían estar en la base de los efectos adversos del ácido trans-elaídico (TEA) sobre la memoria apetitiva

En este estudio, la medición de los biomarcadores lipídicos en suero reveló un claro efecto aterogénico inducido por el TEA (Figura 4.2). Este efecto podría conducir a una estenosis aterosclerótica intracraneal, reduciendo el flujo sanguíneo y la disponibilidad de oxígeno y glucosa en el cerebro [3]. Dado que el cerebro consume aproximadamente el 20 % del oxígeno corporal total, la estenosis e isquemia del tejido cerebral podrían tener un gran impacto sobre el rendimiento cognitivo.

En este contexto, nuestro laberinto de ocho brazos permite evaluar eficazmente la componente espacial de la memoria apetitiva. Considerando que la región CA1 del hipocampo es el centro funcional de la memoria espacial y episódica, y que el hipocampo es una de las áreas con mayor consumo de oxígeno, la propiedad aterogénica del TEA probablemente afecte negativamente las habilidades de navegación espacial de los ratones, así como su memoria episódica.

De hecho, niveles elevados de TEA en suero han sido asociados con un mayor riesgo de desarrollar demencia o enfermedad de Alzheimer [58, 59], patologías en las que la región CA1 juega un papel crucial.

Por otro lado, aunque el TEA, el TVA y el COA son ácidos grasos no esenciales, podrían desempeñar funciones energéticas importantes mediante la beta-oxidación. Por ejemplo, el TEA presenta una velocidad de oxidación particularmente lenta y, debido a su doble enlace en posición trans-9, tiene la desafortunada capacidad de competir con la oxidación de ácidos grasos omega-9 como el COA, al bloquear las acil-CoA deshidrogenasas [60].

Dado que la beta-oxidación representa aproximadamente el 20 % de la energía total del cerebro [61], es razonable suponer que la ingesta de TEA podría reducir significativamente la energía disponible. Es importante recordar que, en el cerebro, los astrocitos son las únicas células capaces de utilizar ácidos grasos como fuente de energía [62], y que el lactato producido por estos astrocitos constituye la principal fuente energética para las neuronas [63, 64].

En consecuencia, la inhibición de la beta-oxidación por el TEA podría tener un gran impacto en la cantidad de energía disponible en las neuronas, afectando procesos clave como la plasticidad sináptica y la sinaptogénesis [65]. En los astrocitos, esta reducción de energía también podría afectar negativamente la plasticidad estructural del citoesqueleto, necesaria para generar espacio para nuevas sinapsis [66], deteriorando así la formación de nuevas memorias y el desempeño cognitivo.

En línea con lo anterior, niveles elevados de TEA en suero han sido asociados con depresión en la adultez [67].

Nuestros resultados sugieren que el TEA afecta la memoria apetitiva no sólo por sus efectos aterogénicos, que podrían limitar el suministro de oxígeno al cerebro [3], sino también por su interferencia con la beta-oxidación de ácidos grasos [60]. Dado que el hipocampo requiere altos niveles de oxígeno y energía para sostener la plasticidad sináptica, estos efectos combinados podrían comprometer funciones cognitivas clave como la memoria espacial y episódica [61, 65, 66]. Estas observaciones coinciden con estudios que vinculan niveles elevados de TEA con un mayor riesgo de demencia, Alzheimer y depresión [58, 59, 67], lo que refuerza su perfil como un lípido potencialmente neurotóxico.

5.2. CREB y el excedente energético podrían explicar los efectos positivos del ácido trans-vaccénico sobre la memoria apetitiva

A diferencia del TEA, el TVA indujo un efecto ateroprotector (Fig. 4.2). Este efecto beneficioso ya ha sido observado para otros ácidos grasos trans de origen rumiante, como se discutió al inicio de esta sección. Sin embargo, algunos efectos beneficiosos adicionales de los rTFA han sido reportados en el sistema nervioso central. Por ejemplo, se ha demostrado que la ingesta de ácido ruménico (RA) tiene efectos positivos en la enfermedad de Alzheimer [68], y previene la muerte de neuronas corticales inducida por exitotoxicidad [69].

Durante el aprendizaje y la formación de memorias, la plasticidad sináptica y la sinaptogénesis requieren un alto consumo de energía. En particular, el metabolismo glial cumple un rol esencial en la sinaptogénesis, ya que la retracción de los procesos gliales libera espacio para la formación de nuevas sinapsis neuronales [66].

Dado que el TVA (al igual que el COA) entra completamente en el proceso de beta-oxidación para producir energía a través de las ligasas CoA de ácidos grasos de cadena larga tipo 1 o 2 en las mitocondrias de los astrocitos [62], el TVA podría favorecer el aprendizaje apetitivo al aumentar la energía disponible para la plasticidad estructural glial, facilitando la sinaptogénesis en el hipocampo.

El factor de transcripción CREB (*cAMP response element-binding protein*) desempeña un papel crucial en la formación de memorias. En las neuronas del hipocampo, CREB regula la expresión de genes esenciales para la plasticidad sináptica y para la consolidación y almacenamiento de memorias a largo plazo [70].

Curiosamente, las neuronas hipocampales expresan el receptor FFAR2 (*Free Fatty Acid Receptor 2*), y su antagonismo por parte del TVA activa CREB [21, 71]. Por lo tanto, es probable que el TVA

mejore el desempeño en tareas de aprendizaje apetitivo mediante la activación directa de CREB en el hipocampo.

Además de sus funciones energéticas y transcripcionales directas, los metabolitos derivados del TVA podrían también participar en estos efectos. El TVA puede convertirse en RA o en TPA (*trans-palmitoleic acid*). La conversión a RA, el isómero más abundante del ácido linoleico conjugado (CLA), es catalizada por la enzima $\Delta 9$ -desaturasa [72], mientras que la conversión a TPA ocurre mediante desaturasas beta y oxidación parcial [13].

Esto es relevante porque tanto el receptor PPAR- α (receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa, para RA) como el receptor GPR40 (para TPA) se expresan altamente en el hipocampo, donde inducen la activación de CREB y, en consecuencia, la expresión de genes relacionados con la plasticidad sináptica [73, 74].

Tanto RA como TPA pueden obtenerse directamente de la dieta, aunque su fuente principal es la conversión de TVA ingerido [72, 75, 76]. Si bien la mayor parte de esta conversión ocurre en hígado y tejido adiposo, con transporte activo posterior hacia el cerebro, también se ha demostrado que la conversión a RA ocurre localmente en el hipocampo, dado que la $\Delta 9$ -desaturasa se expresa altamente en esta región [77].

En consonancia con estos hallazgos, se ha observado que individuos con fenotipo de envejecimiento cerebral retardado presentan niveles séricos más altos de TVA en comparación con aquellos con envejecimiento acelerado [78], aunque algunos estudios no han encontrado esta asociación [79].

Nuestros resultados indican que el TVA podría mejorar la memoria apetitiva mediante dos mecanismos complementarios: por un lado, al aumentar la disponibilidad de energía en astrocitos a través de la beta-oxidación [62, 66]; y por otro, al inducir la activación de CREB en neuronas del hipocampo, ya sea directamente o mediante sus metabolitos RA y TPA [21, 71, 73]. CREB regula genes clave

en la consolidación de la memoria [70], por lo que su activación sugiere un papel funcional del TVA en la mejora cognitiva. Estos datos coinciden con estudios recientes que relacionan altos niveles de TVA con fenotipos de envejecimiento cerebral más lento [78], lo que refuerza su potencial como lípido neuroprotector.

El eje intestino-cerebro también podría contribuir a los efectos del TEA y del TVA sobre la memoria apetitiva

La metabolización del TEA y TVA no sólo ocurre en el hígado y el tejido adiposo, sino también en el intestino, y depende en gran medida de la microbiota intestinal. Tanto la metabolización bacteriana intrínseca de los AGT como los metabolitos derivados de los AGT podrían favorecer el crecimiento de ciertas bacterias o inhibir otras, alterando así la diversidad del microbioma intestinal. Esta disbiosis resultante podría modificar la comunicación bidireccional entre el intestino y el sistema nervioso, en la que el hipocampo está directamente involucrado.

Por ejemplo, la eliminación de la microbiota intestinal en ratones afecta las vías de señales dependientes de CREB en el hipocampo, lo que deteriora el rendimiento motor y cognitivo [80]. En este sentido, se ha reportado que una alta ingesta de TEA en ratones incrementa la abundancia de bacterias asociadas a inflamación como *Desulfovibrionaceae* [81] y *Staphylococcus* [82], al mismo tiempo que disminuye la presencia de bacterias beneficiosas como *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae*, conocidas por su función antiinflamatoria en el intestino.

En ambos casos, los cambios en la microbiota inducidos por el TEA se acompañan de una reducción en la concentración de ácidos grasos de cadena corta (SCFAs, por sus siglas en inglés) como

el propiónico, butírico, valérico y heptanoico, los cuales promueven la salud intestinal y modulan la inflamación. En cambio, ratas alimentadas con una dieta rica en grasas rumiantes (20 %), con alto contenido de TVA, mostraron un aumento en la abundancia de *Lachnospiraceae*, *Pseudoflavonifractor* y *Blautia*, bacterias conocidas por producir SCFAs de efectos beneficiosos [83].

Los SCFAs no sólo ejercen efectos positivos a nivel intestinal, sino que también pueden alcanzar el cerebro, y en particular el hipocampo, a través del torrente sanguíneo, donde modulan positivamente la neurogénesis, la producción del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el metabolismo energético y la inflamación [84, 85]. Por lo tanto, el eje intestino-cerebro podría contribuir significativamente a los efectos observados del TEA y del TVA sobre el desempeño en la memoria apetitiva.

Los resultados sugieren que el eje intestino-cerebro también podría mediar los efectos del TEA y el TVA sobre la memoria apetitiva. El TEA promueve una disbiosis intestinal caracterizada por un aumento de bacterias proinflamatorias y una reducción en la producción de SCFAs beneficiosos, lo que podría afectar negativamente la comunicación entre el intestino y el cerebro [81, 82, 85]. En contraste, el TVA incrementa bacterias que producen SCFAs, las cuales pueden atravesar la barrera hematoencefálica y modular procesos claves en el hipocampo, como la neurogénesis, la inflamación y la expresión de BDNF [83, 84]. Dado que la eliminación de la microbiota afecta la activación de CREB y el rendimiento cognitivo [80], estos hallazgos refuerzan el rol del microbioma como modulador indirecto de los efectos neuronales de los TFA.

5.3. Limitaciones y fortalezas de este estudio

Dado que en las últimas dos décadas ha habido una reducción significativa en el consumo de TFA, la dosis utilizada en nuestros experimentos (168 mg/kg) podría considerarse elevada en comparación con la ingesta actual estimada de TFA en humanos (~25 mg/kg). Sin embargo, personas con ciertos hábitos alimentarios podrían seguir consumiendo niveles altos de TEA, ya que la etiqueta "cero grasas trans" significa que una porción contiene menos de 0.5 g de TFA, pero no necesariamente cero.

Del mismo modo, individuos que consumen un exceso de productos de origen rumiante podrían ingerir dosis de rTFA superiores a las requeridas nutricionalmente.

Por otro lado, la duración del tratamiento con TFA en la mayoría de los estudios publicados es similar a la nuestra, con protocolos de 5 a 7 semanas. No obstante, las dosis empleadas en esos trabajos suelen ser considerablemente más altas. Mientras que nosotros utilizamos una dosis de 4.2 mg/día por ratón (168 mg/kg), la mayoría de los estudios, si no todos, utilizan dosis que exceden los límites de consumo humano. Por ejemplo, en [81] se administró una dosis de ~10 mg/día por ratón (~400 mg/kg), y en [19], una dosis de ~60 mg/día por ratón (2.4 g/kg).

Asimismo, el uso exclusivo de ratones machos en este estudio podría considerarse una limitación a la luz de los lineamientos actuales que exigen evitar sesgos por sexo en la investigación biomédica. Sin embargo, considerando que las estrategias conductuales difieren entre sexos y pueden conferir ventajas particulares a machos o hembras [86], este trabajo se plantea como un punto de partida para el estudio de los efectos de los TFA sobre el desempeño en tareas de memoria apetitiva.

Este estudio representa un paso inicial hacia la comprensión de los efectos de los TFA sobre la memoria apetitiva. A pesar de cier-

tas limitaciones metodológicas, como el uso exclusivo de ratones machos y una dosis relativamente alta de AGT, el diseño experimental se alineó con protocolos estandarizados en la literatura. A diferencia de trabajos que emplean dosis excesivas, nuestras concentraciones representan una exposición potencialmente alcanzable en condiciones dietéticas reales. Estos hallazgos abren nuevas líneas de investigación sobre el papel diferencial de los TFA de origen industrial y rumiante en la función cognitiva, así como la importancia de integrar variables como sexo, microbiota y metabolismo cerebral en futuros estudios.

Capítulo 6

Conclusiones y perspectivas

Las conclusiones y perspectivas más importantes de esta investigación se muestran a continuación. Note que las conclusiones descritas, están orientadas a los posibles beneficios de la salud pública.

6.1. Conclusiones

- En este estudio, nos propusimos evaluar si los TFA industriales (*iTFA*) y rumiantes (*rTFA*) ejercen efectos biológicos diferenciados, a pesar de compartir una configuración geométrica trans en su estructura química. Para ello, utilizamos dos de los TFA más comunes en la dieta humana: TEA y TVA (industriales y rumiantes, respectivamente), los cuales fueron administrados a ratones durante 45 días en una dosis considerada no saludable, equivalente a una ingesta humana de aproximadamente 15 g diarios. Los resultados fueron contundentes: mientras que el TEA indujo dislipidemia severa, evidenciada por el aumento de colesterol total, LDL, VLDL y triglicéridos, junto con una disminución significativa de HDL, el TVA mostró efectos opuestos. En particular, el TVA mejoró el perfil lipídico de los ratones, disminuyendo los marcadores aterogénicos e incrementando los niveles de HDL, lo que sugiere un efecto cardioprotector.

- Además, se evaluó el desempeño cognitivo de los animales mediante una tarea de memoria apetitiva basada en recompensas espaciales. Aquí también se observaron diferencias significativas: el TEA afectó negativamente la capacidad de aprendizaje espacial de los ratones, mientras que el TVA no sólo no tuvo efectos adversos, sino que mejoró su desempeño en la tarea. De manera interesante, estos efectos beneficiosos también fueron replicados por el COA, un ácido graso monoin-saturado en configuración cis, presente en grandes cantidades en aceites comestibles como el de oliva y el de canola.
- En conjunto, nuestros hallazgos respaldan la hipótesis de que los iTFA y rTFA no pueden ser considerados equivalentes en términos de sus efectos biológicos. A pesar de compartir una estructura trans, sus orígenes distintos parecen conferirles propiedades fisiológicas opuestas: mientras que los iTFA como el TEA tienen efectos perjudiciales tanto a nivel metabólico como cognitivo, los rTFA como el TVA podrían incluso tener propiedades protectoras.
- Estos resultados no solo aportan evidencia empírica relevante al campo de la nutrición y la neurociencia, sino que también tienen importantes implicancias para el diseño de políticas de salud pública. Específicamente, se sugiere la necesidad de re-evaluar las recomendaciones dietéticas actuales sobre el consumo de TFA, diferenciando entre aquellos de origen industrial y los de origen natural rumiante.

La figura 6.1 resume de manera esquemática las conclusiones más importantes de este trabajo.

La mayor parte de los resultados presentados en esta tesis fueron publicados en la Referencia [87].

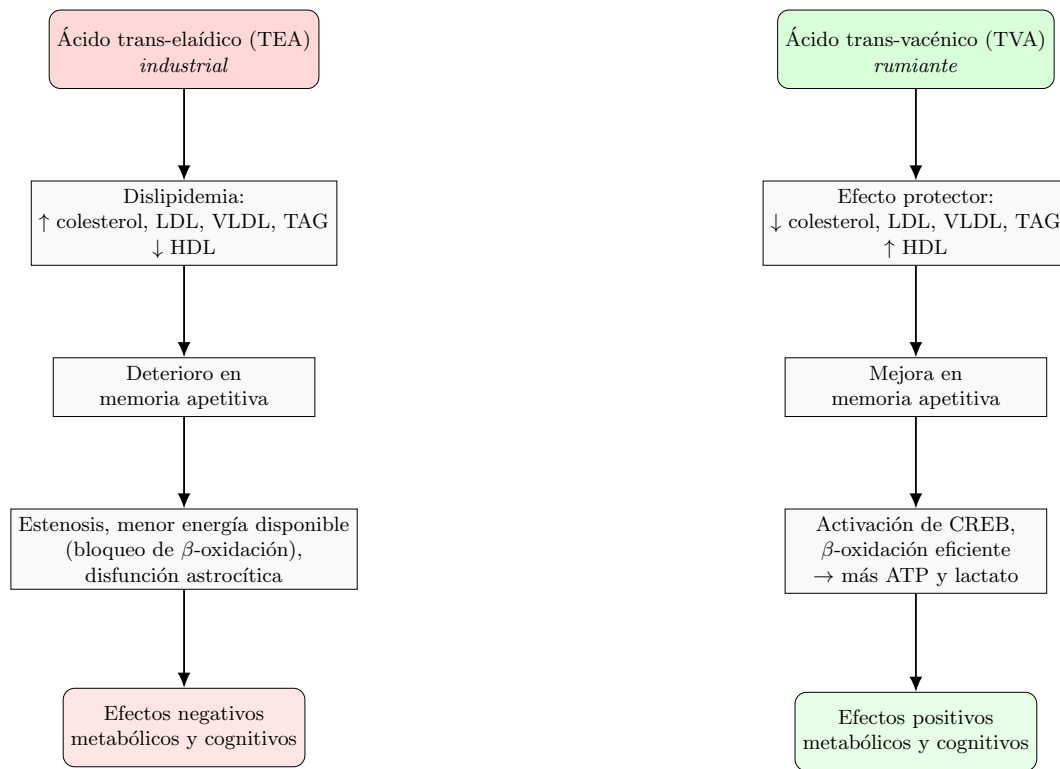


Figura 6.1: Representación esquemática de las principales conclusiones de este trabajo.

6.2. Perspectivas

Aunque las consecuencias negativas de los ácidos grasos trans industriales han sido ampliamente estudiadas, los posibles beneficios para la salud de los ácidos grasos trans de origen rumiante han recibido considerablemente menos atención. En el contexto de los resultados obtenidos en este trabajo, las posibles extensiones a corto plazo abren, entre otras, las siguientes preguntas:

- **¿Puede revertirse el deterioro de la memoria espacial inducido por dietas ricas en azúcares y grasas saturadas mediante una dieta no industrializada?** Esta pregunta podría aportar información clave sobre la neuroplasticidad y la capacidad del cerebro para recuperarse de hábitos dietéticos perjudiciales.

- **¿Influye una dieta no industrializada de manera positiva en la memoria espacial y en la dinámica de codificación hipocampal?**
- **¿Podría una dieta saludable contribuir a la prevención de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, al preservar funciones hipocampales?**
- **¿Cómo influye el consumo de los ácidos trans en la actividad sexual?** Un campo poco explorado es el estudio del efecto de los ácidos trans en la actividad sexual.
- **Utilizando otras técnicas, por ejemplo de biofísica y bioquímica, uno podría estudiar a nivel molecular el origen de todas las reacciones químicas involucradas en los procesos neurocognitivos.**
- **Experimentos mecanísticos a futuro relacionados con este trabajo.** Para mencionar algunos de los experimentos mecanísticos futuros relacionados con este trabajo, se puede plantear la hipótesis, por ejemplo que el ácido trans-elaídico deteriora la memoria apetitiva mediante un mecanismo multifactorial que incluye dislipidemia, inflamación endotelial, reducción de la perfusión cerebral, alteración del metabolismo energético astrogliar y disbiosis intestinal proinflamatoria. En contraste, el ácido trans-vaccénico podría mejorar el desempeño cognitivo al favorecer un perfil metabólico menos aterogénico, aumentar la disponibilidad energética en astrocitos y activar vías de plasticidad sináptica dependientes de CREB en el hipocampo. Estos efectos podrían estar mediados adicionalmente por metabolitos derivados del TVA y por cambios favorables en la microbiota intestinal y en la producción de ácidos grasos de cadena corta. Por ejemplo, para medir las alteraciones vasculares, se puede diseñar un experimento que mida el flujo

sanguíneo cerebral (perfusión) mediante una técnica doppler láser. Uno esperaría que el TEA reduce la perfusión cerebral debido a efectos alterogénicos (daño vascular), mientras que el TVA mantiene la perfusión, como protector vascular. Otro experimento posible sería medir la microbiota intestinal mediante la detreminación de un perfil de microbiota intestinal utilizando secuenciación 16s y PCR (técnicas de biología molecular para analizar el ADN bacteriano), para medir, por ejemplo, la expresión CREB (por técnicas de qPCR) o los marcadores inflamatorios. La medición de la expresión de CREB consiste en cuantificar los niveles del factor de transcripción CREB o de su forma activada fosforilada (pCREB), con el objetivo de evaluar la activación de vías moleculares asociadas con plasticidad sináptica y consolidación de memoria en el hipocampo. Uno esperaría que el TEA induzca disbiosis proinflamatoria (la microbiota intestinal favorece la inflamación, con el aumento de bacterias como el *Staphylococcus*). Es importante mencionar que existen numerosas posibilidades de experimentos futuros en relación a ampliar el conocimiento del tema de este trabajo, por ejemplo, medir la plasticidad sináptica (mecanismo por el cual el cerebro modifica la comunicación entre neuronas). Esto constituye uno de los mecanismos celulares fundamentales del aprendizaje y la formación de la memoria. Se podría realizar un experimento utilizando electrofisiología en CA1 (medición de la actividad eléctrica de las neuronas en la región CA1 del hipocampo). La región CA1 del hipocampo es la que integra la información y participa en la consolidación de la memoria. El experimento se puede realizar colocando colocando electrodos en la región CA1 del hipocampo para medir la respuesta de las neuronas cuando reciben señales.

Bibliografía

- [1] I. A. Brouwer, A. J. Wanders, and M. B. Katan, “Effect of animal and industrial trans fatty acids on hdl and ldl cholesterol levels in humans—a quantitative review,” *PLoS One*, vol. 5, p. e9434, 2010.
- [2] V. Dhaka, N. Gulia, K. S. Ahlawat, and B. S. Khatkar, “Trans-fats sources, health risks and alternative approach: a review,” *Journal of Food Science and Technology*, vol. 48, pp. 534–541, 2011.
- [3] J. Song and S. U. Kwon, “Intracranial atherosclerotic stenosis,” *Cerebrovascular Diseases Extra*, vol. 15, pp. 62–67, 2025.
- [4] N. Cassagno *et al.*, “Low amounts of trans 18:1 fatty acids elevate plasma triacylglycerols but not cholesterol and alter the cellular defence to oxidative stress in mice,” *British Journal of Nutrition*, vol. 94, pp. 346–352, 2005.
- [5] T. Monguchi *et al.*, “Excessive intake of trans fatty acid accelerates atherosclerosis through promoting inflammation and oxidative stress in a mouse model of hyperlipidemia,” *Journal of Cardiology*, vol. 70, pp. 121–127, 2017.
- [6] K. M. Tomey *et al.*, “Dietary fat subgroups, zinc, and vegetable components are related to oxidative stress in midlife women,” *Journal of Nutrition*, vol. 137, pp. 2412–2419, 2007.
- [7] H. Liu *et al.*, “Elaidic acid leads to mitochondrial dysfunction

- via mitochondria-associated membranes triggers disruption of mitochondrial calcium fluxes,” *Food Science and Human Wellness*, vol. 13, pp. 287–298, 2024.
- [8] B. A. Golomb and A. K. Bui, “A fat to forget: Trans fat consumption and memory,” *PLoS One*, vol. 10, p. e0128129, 2015.
- [9] F. Trevizol *et al.*, “Cross-generational trans fat intake modifies bdnf mrna in the hippocampus: Impact on memory loss in a mania animal model,” *Hippocampus*, vol. 25, pp. 556–565, 2015.
- [10] C. S. Pase *et al.*, “Trans fat intake during lactation increases anxiety-like behavior and alters hippocampal function,” *Brain Research Bulletin*, vol. 166, pp. 110–117, 2021.
- [11] A. B. Oteng and S. Kersten, “Mechanisms of action of trans fatty acids,” *Advances in Nutrition*, vol. 11, pp. 697–708, 2020.
- [12] K. Kuhnt *et al.*, “Trans fatty acid isomers and the trans-9/trans-11 index in fat containing foods,” *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 113, pp. 1281–1292, 2011.
- [13] E. Guillocheau *et al.*, “Current intakes of trans-palmitoleic and trans-vaccenic acids in france are ensured by ruminant products,” *Food Chemistry: X*, vol. 5, p. 100081, 2020.
- [14] A. Romero, C. Cuesta, and F. J. Sánchez-Muñiz, “Trans fatty acid production in deep fat frying of frozen foods with different oils and frying modalities,” *Nutrition Research*, vol. 20, pp. 599–608, 2000.
- [15] E. Choe and D. Min, “Mechanisms and factors for edible oil oxidation,” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 5, pp. 169–186, 2006.

- [16] N. Cheng *et al.*, “Computational and experimental research on mechanism of cis/trans isomerization of oleic acid,” *Heliyon*, vol. 4, p. e00768, 2018.
- [17] S. Banni *et al.*, “Vaccenic acid suppresses premalignant lesions in rat mammary gland,” *Nutrition and Cancer*, vol. 41, pp. 91–97, 2001.
- [18] M. Jacome-Sosa *et al.*, “Vaccenic acid suppresses intestinal inflammation by increasing anandamide,” *Journal of Lipid Research*, vol. 57, pp. 638–649, 2016.
- [19] C. M. Bassett *et al.*, “Dietary vaccenic acid has antiatherogenic effects in *ldlr*^{-/-} mice,” *Journal of Nutrition*, vol. 140, pp. 18–24, 2010.
- [20] C. J. Field *et al.*, “Human health benefits of vaccenic acid,” *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, vol. 34, pp. 979–991, 2009.
- [21] H. Fan *et al.*, “Trans-vaccenic acid reprograms cd8(+) t cells and anti-tumour immunity,” *Nature*, vol. 623, pp. 1034–1043, 2023.
- [22] S. Ortiz-Padilla *et al.*, “Blockade of the dopaminergic neurotransmission alters gene expression in the substantia nigra,” *Neuropharmacology*, vol. 166, p. 107920, 2020.
- [23] G. Marcelin *et al.*, “A loss-of-function mutation in *ube2l6* associated with obesity resistance,” *Diabetes*, vol. 62, pp. 2784–2795, 2013.
- [24] J. M. Johnson *et al.*, “Performance of balb/c and c57bl/6 mice under an incremental repeated acquisition of behavioral chains procedure,” *Behavioural Processes*, vol. 84, pp. 705–714, 2010.

- [25] K. M. Turner *et al.*, “Balb/c mice can learn touchscreen visual discrimination and reversal tasks faster than c57bl/6 mice,” *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, vol. 11, 2017.
- [26] C. D. Fryar *et al.*, “Anthropometric reference data for children and adults: United states, 2015-2018,” *Vital Health Stat.*, vol. 31-44, 2021.
- [27] C. M. Bassett *et al.*, “Trans-fatty acids in the diet stimulate atherosclerosis,” *Metabolism*, vol. 58, pp. 1802–1808, 2009.
- [28] A. J. Wanders *et al.*, “Trans fat intake and its dietary sources in general populations worldwide: A systematic review,” *Nutrients*, vol. 9, no. 8, 2017.
- [29] T. Tholstrup *et al.*, “Effects of butter high in ruminant trans and monounsaturated fatty acids on lipoproteins, oxidative stress and insulin in healthy men,” *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 83, pp. 237–243, 2006.
- [30] D. B. Allison *et al.*, “Estimated intakes of trans fatty and other fatty acids in the us population,” *Journal of the American Dietetic Association*, vol. 99, pp. 166–175, 1999.
- [31] P. Liu *et al.*, “Effects of lactobacillus on hyperlipidemia in high-fat diet-induced mouse model,” *Archives of Medical Science*, vol. 19, pp. 792–799, 2023.
- [32] P. A. Dudchenko, “An overview of the tasks used to test working memory in rodents,” *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, vol. 28, no. 7, pp. 699–709, 2004.
- [33] D. S. Olton and R. J. Samuelson, “Remembrance of places passed: spatial memory in rats,” *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, vol. 2, no. 2, pp. 97–116, 1976.

- [34] R. G. M. Morris, "Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat," *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 11, no. 1, pp. 47–60, 1984.
- [35] N. Burgess *et al.*, "The human hippocampus and spatial and episodic memory," *Neuron*, vol. 35, no. 4, pp. 625–641, 2002.
- [36] J. O'Keefe and L. Nadel, "The hippocampus as a cognitive map," *Oxford: Clarendon Press*, 1978.
- [37] H. Eichenbaum, "A cortical hippocampal system for declarative memory," *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 1, no. 1, pp. 41–50, 2000.
- [38] R. I. Shader, "Lipids: structure, function, and metabolism," *Neuropsychopharmacology*, vol. 39, pp. 1–2, 2014.
- [39] D. Wang and F. B. Hu, "Dietary fat and risk of cardiovascular disease: recent controversies and advances," *Annual Review of Nutrition*, vol. 37, pp. 423–446, 2017.
- [40] U. N. Das, "Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology," *Biotechnology Journal*, vol. 1, no. 4, pp. 420–439, 2006.
- [41] F. Esmaeili *et al.*, "Polyunsaturated fatty acids and the nervous system: cellular and molecular effects," *Progress in Lipid Research*, vol. 58, pp. 1–17, 2015.
- [42] V. Dubois *et al.*, "Nutritional value of oleic acid and its role in prevention of cardiovascular diseases," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 84, pp. 715–738, 2007.
- [43] J. H. Y. Wu *et al.*, "Trans fats: health risks and alternatives," *Current Atherosclerosis Reports*, vol. 21, p. 40, 2019.

- [44] N. V. Bhagavan and C.-E. Ha, *Essentials of Medical Biochemistry: With Clinical Cases*. Academic Press, 2011.
- [45] J. Golledge *et al.*, “An experimental protocol for high quality collection of murine blood samples for serum biochemistry analysis,” *Laboratory Animals*, vol. 42, no. 1, pp. 45–51, 2008.
- [46] P. J. Karanicolas, F. Farrokhyar, and M. Bhandari, “Blinding: Who, what, when, why, how?,” *Canadian Journal of Surgery*, vol. 53, no. 5, pp. 345–348, 2010.
- [47] J. E. Ayala *et al.*, “Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice,” *Disease Models & Mechanisms*, vol. 3, no. 9-10, pp. 525–534, 2010.
- [48] D. Mozaffarian *et al.*, “Trans fatty acids and cardiovascular risk,” *New England Journal of Medicine*, vol. 354, no. 15, pp. 1601–1613, 2006.
- [49] J. Cohen, *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates, 2nd ed., 1988.
- [50] S. S. Shapiro and M. B. Wilk, “An analysis of variance test for normality (complete samples),” *Biometrika*, vol. 52, no. 3/4, pp. 591–611, 1965.
- [51] O. J. Dunn, “Multiple comparisons using rank sums,” *Technometrics*, vol. 6, no. 3, pp. 241–252, 1964.
- [52] L. J. den Hartigh, “Conjugated linoleic acid effects on cancer, obesity, and atherosclerosis: A review of pre-clinical and human studies,” *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, vol. 22, no. 2, pp. 135–143, 2019.

- [53] D. Mozaffarian, M. B. Katan, A. Ascherio, M. J. Stampfer, and W. C. Willett, "Trans fatty acids and cardiovascular disease," *New England Journal of Medicine*, vol. 354, no. 15, pp. 1601–1613, 2006.
- [54] Y. Wang, M. M. Jacome-Sosa, and S. D. Proctor, "Tissue-specific incorporation of trans-vaccenic acid and its effects on plasma lipids and lipoproteins in rats," *Lipids*, vol. 45, no. 7, pp. 631–638, 2010.
- [55] R. Valenzuela, R. Uauy, L. Rodríguez, *et al.*, "Differential inflammatory response of endothelial cells exposed to elaidic and vaccenic acid isomers," *Journal of Lipid Research*, vol. 62, p. 100039, 2021.
- [56] G. W. Meijer, M. A. Bressers, J. de Groot, A. G. Lemmens, and A. C. Beynen, "Trans isomers of c18:1 fatty acids and the post-prandial lipemia in hamsters fed a high-fat diet," *Lipids*, vol. 36, no. 1, pp. 43–48, 2001.
- [57] Y. Wang, M. Jacome-Sosa, M. R. Ruth, and S. D. Proctor, "Trans vaccenic acid reduces hepatic and plasma triglycerides in insulin resistant jcr:la-cp rats," *Nutrition & Metabolism*, vol. 5, no. 1, p. 22, 2008.
- [58] T. Honda *et al.*, "Serum elaidic acid concentration and risk of dementia: The hisayama study," *Neurology*, vol. 93, pp. e2053–e2064, 2019.
- [59] M. Zhang *et al.*, "Elaidic acid enhanced the simultaneous neurotoxicity attributable to oxidative damages," *Toxicology and Industrial Health*, vol. 27, pp. 661–672, 2011.
- [60] G. Zacherl *et al.*, "Trans fatty acids inhibit acyl-coa dehydrogenases: A mechanistic explanation for disrupted lipid metabolism," *Lipids*, vol. 49, no. 5, pp. 395–403, 2014.

- [61] D. Ebert, R. G. Haller, and M. E. Walton, "Energy contribution of octanoate to cerebral metabolism in humans," *Brain Research Reviews*, vol. 43, no. 1, pp. 57–64, 2003.
- [62] J. Edmond *et al.*, "Fatty acid utilization in developing rat brain: roles of astrocytes and neurons," *Developmental Brain Research*, vol. 34, no. 1, pp. 151–157, 1987.
- [63] M. Belanger and P. J. Magistretti, "The role of astroglia in neuroprotection," *Dialogues in Clinical Neuroscience*, vol. 13, no. 3, pp. 261–276, 2011.
- [64] P. Schönfeld and G. Reiser, "Why does brain metabolism not favor burning of fatty acids to provide energy? reflections on disadvantages of the use of free fatty acids as fuel for brain," *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, vol. 33, no. 10, pp. 1493–1499, 2013.
- [65] A. Faria-Pereira and V. A. Morais, "Astrocyte-neuron metabolic coupling in health and neurodegeneration," *Frontiers in Molecular Neuroscience*, vol. 15, p. 876932, 2022.
- [66] T. Lawal *et al.*, "Cytoskeletal remodeling in astrocytes supports synaptogenesis and cognitive plasticity," *GLIA*, vol. 70, no. 4, pp. 655–672, 2022.
- [67] B. Liu *et al.*, "Trans fatty acid levels are associated with depressive symptoms in adults," *Journal of Affective Disorders*, vol. 250, pp. 256–263, 2019.
- [68] T. Fujita *et al.*, "Beneficial effects of ruminic acid on alzheimer's disease pathology in mice," *Neurobiology of Aging*, vol. 99, pp. 56–66, 2021.
- [69] M. C. Hunt *et al.*, "Ruminic acid protects cortical neurons from excitotoxicity," *Brain Research*, vol. 1320, pp. 146–153, 2010.

- [70] E. R. Kandel, "The molecular biology of memory: camp, creb, and the consolidation of memory," *Cell*, vol. 157, pp. 163–186, 2012.
- [71] A. Razazan *et al.*, "Expression of free fatty acid receptors in hippocampal neurons," *Neuroscience Letters*, vol. 744, p. 135576, 2021.
- [72] A. M. Turpeinen *et al.*, "Delta-9 desaturase and the formation of conjugated linoleic acid in vivo," *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 13, pp. 591–595, 2002.
- [73] A. Roy *et al.*, "Activation of ppar-alpha and gpr40 enhances hippocampal creb expression," *Neuropharmacology*, vol. 75, pp. 169–179, 2013.
- [74] M. Zamarbide *et al.*, "Creb-mediated gene regulation in synaptic plasticity," *Hippocampus*, vol. 24, pp. 123–134, 2014.
- [75] J. E. Santora *et al.*, "Biosynthesis and tissue incorporation of conjugated linoleic acid isomers," *Journal of Nutrition*, vol. 130, pp. 208–215, 2000.
- [76] L. Zhang *et al.*, "Metabolism of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in human tissues," *Lipids*, vol. 34, pp. 121–126, 1999.
- [77] M. Kumar *et al.*, "High expression of delta-9 desaturase in rat hippocampus," *Journal of Lipid Research*, vol. 40, pp. 2230–2236, 1999.
- [78] C. E. Zwillig *et al.*, "Serum lipid signatures associated with delayed versus accelerated brain aging," *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2024. en prensa.
- [79] F. Dakterzada *et al.*, "The shift in the fatty acid composition of the circulating lipidome in alzheimer's disease," *Alzheimer's & Dementia*, vol. 20, pp. 3322–3333, 2024.

- [80] H. Zeng *et al.*, “Gut microbiota modulates brain creb signaling and cognitive behavior,” *Molecular Psychiatry*, vol. 21, pp. 568–578, 2016.
- [81] X. Ge *et al.*, “High elaidic acid intake alters gut microbiota and promotes inflammation in mice,” *Scientific Reports*, vol. 9, p. 1253, 2019.
- [82] S. Mohammadi *et al.*, “Dietary trans fats induce gut dysbiosis and inflammation-related bacterial shifts,” *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 114, p. 109220, 2023.
- [83] C. A. de Brito Medeiros *et al.*, “Ruminant fat-rich diet enhances scfa-producing gut bacteria in rats,” *Food Research International*, vol. 144, p. 110307, 2021.
- [84] C. Church *et al.*, “Short-chain fatty acids and brain health: linking the gut and the hippocampus,” *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 24, pp. 134–148, 2023.
- [85] Y. P. Silva, A. Bernardi, and R. L. Frozza, “The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication,” *Frontiers in Endocrinology*, vol. 11, p. 25, 2020.
- [86] R. M. Shansky, “Sex differences in behavioral strategies: avoiding interpretive pitfalls,” *Current Opinion in Behavioral Sciences*, vol. 23, pp. 117–123, 2018.
- [87] J. A. Méndez and M. Dorantes-Gilardi, “Differential effects of industrial and ruminant trans fatty acids on appetitive memory,” *Metabolic Brain Disease*, vol. 40, p. 232, 2025.