



ORIGINAL

Biosíntesis *de novo* de glicerofosfolípidos y longevidad

Natalia Mota-Martorell, Irene Pradas, Mariona Jové, Alba Naudí y Reinald Pamplona*

Departament de Medicina Experimental, Universitat de Lleida-Institut de Recerca Biomèdica de Lleida (UdL-IRBLleida), Lleida, España



INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 1 de marzo de 2018

Aceptado el 31 de mayo de 2018

On-line el 4 de julio de 2018

Palabras clave:

Diacilglicéridos

Espectrometría de masas

Lipidómica

Longevidad máxima

RESUMEN

Introducción: Entre los principales componentes lipídicos de las membranas celulares se encuentran los glicerofosfolípidos, que se sintetizan en una vía *de novo* a partir del diacilglicerol (DAG). El perfil lipídico es una característica optimizada asociada con la longevidad animal. En este contexto, hipotetizamos que la tasa de biosíntesis de DAG y, por extensión, de glicerofosfolípidos, guarda una relación con la longevidad de una especie animal.

Material y métodos: Se realiza un análisis lipidómico basado en espectrometría de masas del plasma de 11 especies de mamíferos que cubren un rango de longevidad máxima de 3,5 a 120 años. La identificación de especies lipídicas se basa en masa exacta, tiempo de retención y distribución isotópica. Se aplica un test ANOVA para obtener las especies lipídicas diferenciales entre las especies y la correlación de Spearman para establecer su asociación con la longevidad. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS y el software para el análisis metabolómico *MetaboAnalyst*.

Resultados: Entre las 1.061 especies moleculares lipídicas diferenciales se identifican 47 DAG, 14 de los cuales presentan una correlación significativa y negativa con la longevidad animal. El análisis multivariante muestra que solamente con estos 14 DAG somos capaces de discriminar una especie animal y su longevidad máxima.

Conclusiones: Estos resultados indican que las especies longevas tienen una menor tasa de biosíntesis *de novo* de glicerofosfolípidos, posiblemente asociada a una menor tasa de recambio de los lípidos de membrana, lo que conllevaría un menor coste energético.

© 2018 SEGG. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

De novo biosynthesis of glycerophospholipids and longevity

ABSTRACT

Background: The glycerophospholipids, synthesised from diacylglycerol (DAG), are one of the main lipid components of cell membranes. The lipid profile is an optimised feature associated with animal longevity. In this context, the hypothesis is presented that the DAG biosynthesis rate, and thus, the glycerophospholipids content, is related to animal longevity.

Material and methods: A plasma lipidomic analysis was performed based on the mass spectrometry of 11 mammalian species with a maximum longevity ranging from 3.5 to 120 years. Lipid identification was based on exact mass, retention time, and isotopic distribution. ANOVA test was applied to differentiate the lipids between animal species. The relationship between these lipids and longevity was carried out with a Spearman correlation. Data was analysed using SPSS and *MetaboAnalyst*.

Results: Among the 1,061 different lipid molecular species found between species, 47 were defined as DAG. Interestingly, 14 of them showed a negative correlation with mammalian maximum longevity. Multivariate statistics revealed that 14 DAGs were enough to define mammalian species and their maximum longevity.

Keywords:

Diacylglycerides

Lipidomics

Mass spectrometry

Maximum longevity

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: reinald.pamplona@mex.udl.cat (R. Pamplona).

Conclusions: Data suggest that long-lived mammalian species have a lower rate of glycerophospholipids synthesis through the *de novo* pathway, possibly associated with a lower rate of membrane lipid exchange, which in turn is related to lower energy expenditure.

© 2018 SEGG. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La función primaria de los lípidos en los sistemas biológicos es generar membranas. Fue posteriormente durante la evolución que esta propiedad se extendió a nuevas funciones tales como la señalización celular y, más tarde, el almacenamiento de energía. Los lípidos son macromoléculas esenciales para la vida que se encuentran en todos los organismos vivos, constituyendo los elementos centrales de las membranas biológicas. Durante la década de los 70–80 se describió por primera vez que la composición lipídica varía de forma sistemática entre las distintas especies de mamíferos^{1,2}.

Existen evidencias científicas que muestran que la vida aeróbica, y las especies longevas, han evolucionado reduciendo el contenido de aquellos componentes con mayor susceptibilidad de ser dañados oxidativamente, lo que les confiere una mayor estabilidad estructural³. En términos lipídicos, esto se traduce en una disminución del grado de insaturación y, en consecuencia, una mayor resistencia a la oxidación, de las membranas biológicas tisulares en las especies más longevas^{4–9}, incluyendo vertebrados^{10–13} e invertebrados^{14–16} de longevidad extrema. Al presentar una longevidad 5 veces mayor de lo esperado por su peso corporal¹⁷, los humanos son considerados una especie animal de longevidad extrema y, como tales, comparten las características lipídicas típicas de las especies longevas. En este sentido, se ha observado que los individuos descendientes de nonagenarios tienen membranas eritrocitarias más resistentes a la peroxidación¹⁸.

Dado que la mayoría de los estudios se han realizado a nivel tisular, son pocos los trabajos que han determinado las posibles adaptaciones de los lípidos plasmáticos a la longevidad de las especies animales. En un estudio de fisiología comparada publicado recientemente se demuestra que existe un lipidoma plasmático asociado a la longevidad de las especies caracterizado por un menor contenido plasmático de glicerofosfolípidos (GFL) y ácidos grasos libres de cadena larga, mayor resistencia a la oxidación lipídica y menor contenido de productos derivados de la peroxidación lipídica¹⁹. En humanos de edad avanzada, se ha descrito un lipidoma plasmático caracterizado por una mayor capacidad antioxidante^{20,21}.

Los estudios ómicos de carácter comparado permiten abordar la evolución del genoma y la expresión genética. Dado que existe una relación bidireccional entre metabolitos y expresión génica, el estudio comparado del metaboloma nos permite definir posibles rutas metabólicas relacionadas con la evolución de los mamíferos. En este sentido, hemos diseñado un estudio de comparada donde analizamos el lipidoma plasmático de 11 especies distintas, abarcando un rango de longevidad máxima (o MLSP, del inglés *Maximum lifespan potential*) de entre 3,5 y 120 años. Hemos podido definir la existencia de una correlación negativa entre el contenido de diacilglicéridos (DAG) y la MLSP de las especies, que podría explicar el menor contenido de GFL plasmáticos descrito en las especies más longevas, además de definir un modelo capaz de predecir la longevidad animal basándonos en 14 DAG plasmáticos.

Material y métodos

Animales

Las especies de mamíferos participantes en el presente estudio cubren un rango de longevidad máxima de 3,5 a 120 años.

Todos los especímenes son machos adultos de una edad correspondiente al 15–30% de su longevidad máxima. Así, por ejemplo, la edad de los ratones era de 8 meses, mientras que la de los humanos participantes era de entre 20 y 35 años. En el estudio se incluyen las siguientes especies animales (especie; MLSP en años; tamaño muestral n): ratón (*Mus musculus*; 3,5; n=6), rata (*Rattus norvegicus*; 4,5; n=10), cobaya (*Cavia porcellus* [*C. porcellus*]; 8; n=12), conejo (*Oryctolagus cuniculus* [*O. cuniculus*]; 13; n=10), gato (*Felis catus* [*F. catus*]; 20; n=12), perro (*Canis familiaris*; 20; n=12), oveja (*Ovis aries* [*O. aries*]; 20; n=12), cerdo (*Sus scrofa* [*S. scrofa*]; 27; n=12), toro (*Bos taurus*; 30; n=9), caballo (*Equus caballus* [*E. caballus*]; 46; n=12) y humano (*Homo sapiens*; 120; n=15). Las muestras biológicas de las diferentes especies animales fueron suministradas por Charles River Laboratories España, SA; y las de humanos se obtuvieron de voluntarios sanos. Todas las muestras de sangre se obtuvieron en ayunas (8–12 h) mediante punción cardíaca para ratones, de aorta abdominal para las ratas, y por venopunción para el resto de las especies (humanos incluidos), fueron centrifugadas para separar la fracción plasmática y congeladas inmediatamente en nitrógeno líquido, transferidas y almacenadas antes de 4 h a –80 °C, y utilizadas posteriormente en el análisis lipidómico.

Los protocolos de obtención y uso de muestras biológicas de origen animal fueron aprobados por el Comité Ético de Experimentación Animal de la Universidad de Lleida, mientras que los protocolos humanos lo fueron por el Comité Ético en Investigación Clínica del Hospital Universitario Arnau de Vilanova (de acuerdo con la Declaración de Helsinki). Todos los individuos fueron informados sobre los objetivos y la extensión de la investigación y firmaron un consentimiento informado.

Análisis lipidómico

El análisis lipidómico se basa en un método descrito previamente¹⁹. Con el objetivo de precipitar la proteína, 600 µl de acetona fría se añadieron a 200 µl de muestra (25 µl de plasma y 175 µl de tampón fosfato). Posteriormente, las muestras fueron agitadas vigorosamente durante 10 s y suavemente a 4 °C durante 30 min. Seguidamente, las muestras fueron centrifugadas a 1.400 rpm durante 10 min y el sobrenadante fue evaporado en un Speed Vac (Thermo Fisher Scientific, Barcelona, España). Se añadieron estándares internos representativos de las familias lipídicas, tal y como se describió previamente¹⁹. Los lípidos plasmáticos se extrajeron añadiendo metanol:cloroformo:0,7% cloruro potásico (1:2:1, v/v/v). Después de que las muestras fueran agitadas y centrifugadas a 1.400 rpm durante 10 min, la fracción de cloroformo se separó y evaporó en el Speed Vac (Thermo Fisher Scientific, Barcelona, España). Finalmente, las muestras se resuspendieron en cloroformo:metanol (1:3, v/v) y se inyectaron en el sistema cromatógrafo. Los extractos lipídicos fueron sometidos a espectrometría de masas utilizando la plataforma Agilent LC 1200 series acoplada a un ESI-QTOF-MS/MS 6520 (Agilent Technologies, Barcelona, España). Brevemente, en el método de cromatografía líquida (LC), 2 µL de muestra fueron inyectados en una columna de fase reversa (LXBridge C18 column; 2,1 × 150 mm, 3,5 µm, Waters Corp., Milford, MA, EE. UU.) equipada con una precolumna de fase reversa (XBridge C18; 2,1 × 10 mm, 3,5 µm, Waters Corp., Milford, MA, EE. UU.) a 55 °C. El flujo fue de 250 µl/min con el solvente A

formado por acetato de amonio en metanol-agua (90:10, v/v) y el solvente B por acetato de amonio 5 mM en 1-propanol-hexano-agua (79:20:1, v/v/v). El gradiente consistió en 100% solvente A durante 2 min, del 0% al 100% en 30 min, manteniendo el 100% B durante 3 min, volver al 0% B en 20 min, y reequilibrar a 0% solvente B durante 4 min. Los datos se recogieron en modo TOF de ionización positiva y negativa, y se adquirieron todas las masas en un rango dinámico extendido (2 GHz) de 100-3.000 m/z, usando N₂ como gas nebulizador (5 L/min, 350 °C). El voltaje del capilar fue de 3.500 V, con una velocidad de adquisición de 1 scan/s.

La adquisición de datos fue llevada a cabo con MassHunter Data Analyses Software (Agilent Technologies, Barcelona, España) y se utilizó MassHunter Qualitative Analysis Software (Agilent Technologies, Barcelona, España) para obtener las características moleculares de las muestras, tal como se ha descrito anteriormente¹⁹. Se utilizó MassHunter Mass Profiler Professional Software (Agilent Technologies, Barcelona, España) para el análisis lipídico no dirigido a partir del cual se seleccionaron los 14 DAG. Finalmente, se utilizó el paquete de R OrbisMet (disponible en <http://hdl.handle.net/10609/65305>) y el paquete estadístico SPSS/PC para Windows (SPSS, Chicago, IL, EE. UU.) para el análisis de correlaciones, curvas de regresión y análisis multivariante (análisis de componentes principales (PCA, del inglés *Principal Component Analyses*) y Random Forest).

Resultados

Relación entre longevidad máxima y diacilglicéridos plasmáticos

Se detectó la presencia de 1.061 lípidos plasmáticos diferenciales entre las especies estudiadas. De los lípidos identificados, 47 eran DAG, y 14 de estos correlacionaban negativamente con la MLSP tras aplicar la correlación de Spearman (*r*) (tabla 1). El heatmap de la figura 1 muestra el grado de correlación entre los 14 DAG y la longevidad máxima (MLSP) de las especies animales. En el análisis de regresión se observó que la relación entre la abundancia de los 14 DAG y la MLSP es de tipo exponencial en casi todos ellos (tabla 2). En la figura 2 se muestran gráficamente aquellos DAG que correlacionan negativamente con la longevidad y muestran un mejor ajuste a un modelo exponencial (DAG(39:7): R²=0,46, *r*=-0,29, *p*=0,001; DAG(39:6): R²=0,45, *r*=-0,43, *p*<0,001; DAG(37:3): R²=0,35, *r*=-0,26, *p*=0,004; DAG(32:2): R²=0,35; *r*=-0,23, *p*=0,009). Globalmente, estas correlaciones demuestran una disminución progresiva en el contenido de los DAG estudiados conforme aumenta la longevidad máxima en las diferentes especies de mamíferos.

En un intento por discernir si existe alguna particularidad que defina los DAG que correlacionan con la longevidad animal, se procede a realizar una distribución de los mismos, tanto si correlacionan (14 especies lipídicas) como si no (33 especies lipídicas) de acuerdo al número de átomos de carbono y número de dobles enlaces (fig. 3 y figura suplementaria 1). Los resultados, a pesar de no mostrar un patrón claramente diferencial entre aquellos DAG que correlacionan con la longevidad máxima de las especies y los que no, sí que demuestran que i) aquellos que no correlacionan poseen mayoritariamente más de 40 carbonos, y ii) aquellos que correlacionan presentan PUFA en sus cadenas y especialmente con 3 o 4 dobles enlaces.

Un paso más allá en el establecimiento de un perfil lipídico de DAG que correlacionen con la MLSP sería un análisis dirigido que permita discernir la presencia de ácidos grasos específicos, así como la posición estructural dentro de la molécula (*sn*-1, *sn*-2 o *sn*-3), ya que la identificación efectuada en el análisis no dirigido no permite llegar a este detalle.

Tabla 1

Correlación de Spearman entre los 47 DAG identificados y la longevidad máxima

DAG	N.o carbonos	N.o dobles enlaces	r	p-valor
DAG(39:6)	39	6	-0,437	4,79E-07
DAG(44:3)	44	3	-0,381	1,46E-05
DAG(39:4)	39	4	-0,363	3,88E-05
DAG(37:4)	37	4	-0,356	5,66E-05
DAG(38:4)	38	4	-0,331	1,96E-04
DAG(42:7)	42	7	-0,320	3,20E-04
DAG(39:7)	39	7	-0,297	0,001
DAG(42:3)	42	3	-0,287	0,001
DAG(42:8)	42	8	-0,269	0,003
DAG(37:3)	37	3	-0,262	0,004
DAG(44:5)	44	5	-0,260	0,004
DAG(32:2)	32	2	-0,236	0,009
DAG(44:4)	44	4	-0,216	0,017
DAG(38:3)	38	3	-0,213	0,018
DAG(40:3)	40	3	-0,163	0,073
DAG(38:0)	38	0	-0,148	0,104
DAG(44:6)	44	6	-0,138	0,130
DAG(44:3)	44	3	-0,131	0,151
DAG(42:4)	42	4	-0,120	0,186
DAG(44:8)	44	8	-0,113	0,216
DAG(44:9)	44	9	0,082	0,366
DAG(41:4)	41	4	0,076	0,403
DAG(40:0)	40	0	0,068	0,459
DAG(44:9)	44	9	0,064	0,480
DAG(44:9)	44	9	0,057	0,536
DAG(42:7)	42	7	0,047	0,608
DAG(37:4)	37	4	-0,043	0,635
DAG(43:4)	43	4	0,042	0,649
DAG(40:1)	40	1	0,041	0,650
DAG(38:6)	38	6	-0,040	0,660
DAG(40:0)	40	0	0,040	0,662
DAG(44:2)	44	2	0,039	0,669
DAG(43:3)	43	3	0,037	0,685
DAG(43:5)	43	5	0,037	0,686
DAG(40:1)	40	1	0,032	0,724
DAG(44:7)	44	7	0,030	0,743
DAG(40:4)	40	4	0,022	0,806
DAG(42:9)	42	9	0,022	0,812
DAG(42:8)	42	8	0,021	0,819
DAG(36:0)	36	0	0,019	0,838
DAG(40:1)	40	1	0,013	0,885
DAG(44:7)	44	7	0,011	0,907
DAG(43:3)	43	3	0,010	0,909
DAG(34:1)	34	1	0,007	0,938
DAG(41:2)	41	2	-0,006	0,951
DAG(43:2)	43	2	-0,001	0,989
DAG(42:0)	42	0	-0,001	0,989

Tabla 2

Análisis de regresión no lineal entre el contenido de los 14 DAG y la longevidad máxima

DAG	Ecuación	R ²
DAG(39:7)	$y = 22,13 * \exp(-0,095*x) + -0,36$	0,4649
DAG(39:6)	$y = 8,564 * \exp(-0,095*x) + 0,585$	0,457
DAG(37:3)	$y = 4,899 * \exp(-0,073*x) + 0,404$	0,3583
DAG(32:2)	$y = 5,469 * \exp(-0,072*x) + 0,302$	0,3545
DAG(42:7)	$y = 0,00436x^2 - 0,664x + 17,8$	0,3247
DAG(44:3)	$y = 10,062 * \exp(-0,073*x) + 0,178$	0,3241
DAG(38:3)	$y = 7,022 * \exp(-0,064*x) + 0,236$	0,2981
DAG(44:5)	$y = 4 * \exp(-0,073*x) + 0,569$	0,2916
DAG(39:4)	$y = 4,505 * \exp(-0,068*x) + 0,522$	0,2585
DAG(38:4)	$y = 10875,1 * \exp(-0,05*x) + -893,1$	0,1128
DAG(42:8)	$y = 3,272x^2 - 501,6x + 13176$	0,112
DAG(37:4)	$y = 0,2364x^2 - 49,29x + 2500$	0,05734
DAG(42:3)	$y = 0,394x^2 - 73,41x + 3174$	0,03805
DAG(44:4)	$y = 0,2247x^2 - 34,39x + 1099$	0,03333

Relación entre el contenido de glicerosfolípidos plasmáticos y la especie animal

El análisis estadístico multivariante no supervisado, concretamente el PCA revela que, utilizando solo estos 14 DAG, somos

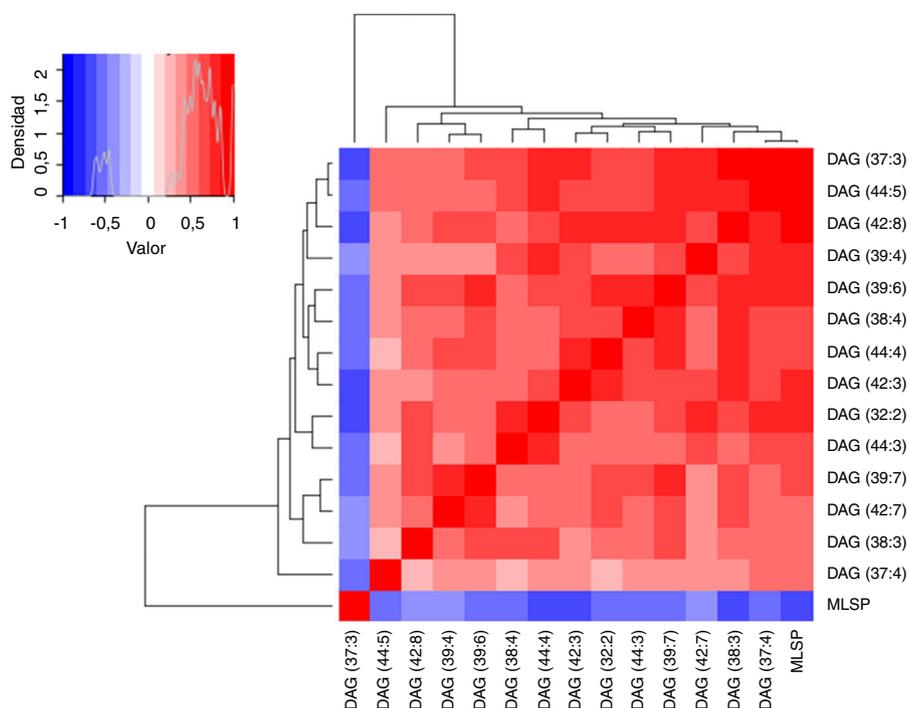


Figura 1. Heatmap que muestra el grado de correlación entre los 14 diacilglicéridos (DAG) y la longevidad máxima (MLSP). Cada línea del gráfico representa el valor r de cada correlación tras aplicar un test de Spearman, coloreada en una escala entre -1 (azul, mitad izquierda del gráfico que relaciona densidad y valor situado en la parte superior izquierda de la figura) y +1 (rojo, mitad derecha del mismo gráfico), ambos indicando un elevado grado de correlación.

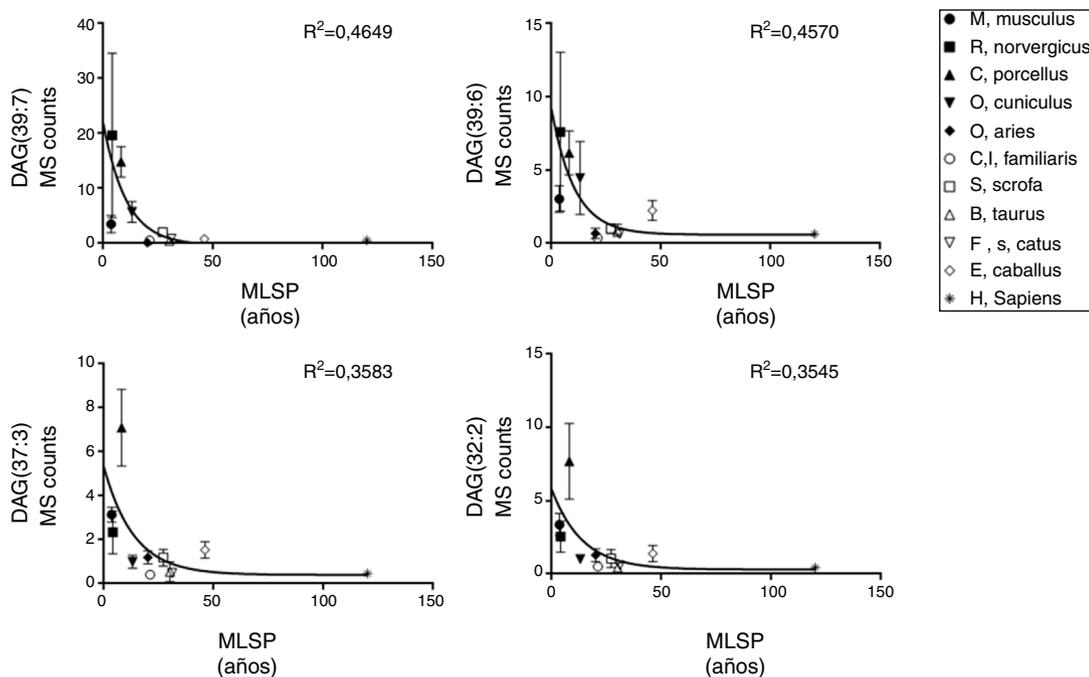


Figura 2. Regresión no lineal entre el contenido de DAG específicos y la longevidad máxima.

capaces de definir especies animales con distinta longevidad, siendo *C. porcellus* y *O. aries* los mejor caracterizados (fig. 4).

La capacidad de estos 14 DAG para definir una especie animal se validó aplicando un análisis de tipo bosques aleatorios (o *Random Forest*), que reveló un error global de clasificación del 16% (tabla 3). De este modo, con únicamente 14 DAG se puede definir la especie animal con una probabilidad de acierto del 84%. Concretamente, este tipo de análisis permitiría clasificar correctamente los individuos de *C. porcellus* (error de clasificación del 0%), *S. scrofa* (error de clasificación del 0%), *O. aries* (error de clasificación del 8.33%) y

E. caballus (error de clasificación del 8.33%) pero no sería útil para clasificar el *O. cuniculus* (error de clasificación del 50%) y *F. catus* (error de clasificación del 33.3%).

Discusión

Los DAG son los precursores de la biosíntesis *de novo* de GFL, incluyendo fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol y cardiolípin²². Los GFL consti-

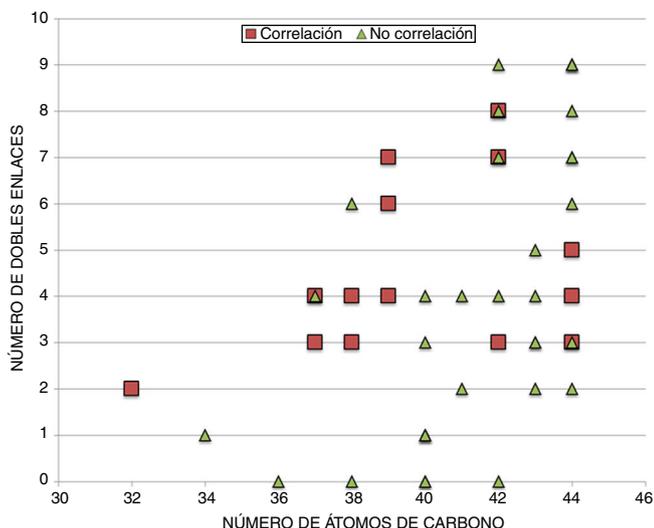


Figura 3. Relación entre el número de átomos de carbono y el número de dobles enlaces de aquellos DAG identificados, independientemente de su grado de correlación con la longevidad. En cuadrados, las diferentes especies lipídicas de DAG que correlacionan con la longevidad máxima, y en triángulos, aquellas especies lipídicas de DAG que no correlacionan con la longevidad.

diversidad de funciones como el tráfico vesicular y la señalización intracelular²², constituyéndose también en un sustrato biológico determinante de la longevidad de las especies animales. Estudios comparativos entre especies de distinta longevidad muestran una reducción de GFL a nivel tisular^{8,17,24} y plasmático^{25,26} que se mantiene en humanos^{20,21,27,28}. Nuestros resultados muestran que el menor contenido de DAG podría explicar, en parte, el menor contenido de GFL en las especies más longevas. Además, el elevado contenido de DAG y GFL documentados en varias condiciones patológicas^{29,30} refuerzan el posible papel beneficioso de una reducción de dichas especies lipídicas en especies animales longevas.

En este estudio se propone un modelo capaz de discernir entre la longevidad máxima de las especies en base al contenido plasmático de 14 DAG con una probabilidad de acierto del 84%. Los GFL constituyen uno de los factores determinantes de la longevidad puesto que representan el 42,5% de las especies lipídicas que correlacionan de forma inversa con la longevidad de los mamíferos, mientras que los glicerolípidos solamente representan el 17,5%¹⁹. La existencia de un perfil lipídico específico asociado a la longevidad, capaz de identificar individuos longevidos únicamente con 20 especies lipídicas, ya se había descrito anteriormente en humanos²⁸. En este sentido, los resultados obtenidos refuerzan la importancia del lipídoma plasmático como factor clave de la longevidad.

No obstante, siguiendo con la línea de los resultados obtenidos, el contenido plasmático de los DAG no es el único factor que determina la longevidad de las especies. En este sentido, se ha demostrado la existencia de mecanismos moleculares compartidos entre las distintas especies, incluyendo la presencia de membranas más resistentes a la oxidación en especies longevas^{4,7,8,14,15,31}. Además, estudios recientes muestran también la existencia de mecanismos reguladores adicionales de la longevidad específicos de cada especie animal^{32,33}, hecho que dificulta el establecimiento de modelos generales predictivos de la longevidad.

Contribución de los autores

Concepción y diseño del estudio: R. Pamplona.
 Recogida de muestras y procedimientos experimentales: N. Mota-Martorell, I. Pradas, M. Jové, A. Naudí y R. Pamplona.
 Análisis estadístico e interpretación de los resultados: N. Mota-Martorell, I. Pradas, M. Jové, A. Naudí y R. Pamplona.
 Redacción del manuscrito: N. Mota-Martorell, I. Pradas, M. Jové, A. Naudí y R. Pamplona.
 Edición del manuscrito: R. Pamplona.
 Todos los autores participaron en la revisión crítica del manuscrito y todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito final. Asimismo, todos los autores tuvieron pleno acceso a los datos del estudio y tuvieron la responsabilidad final de la decisión de enviarlo para su publicación.

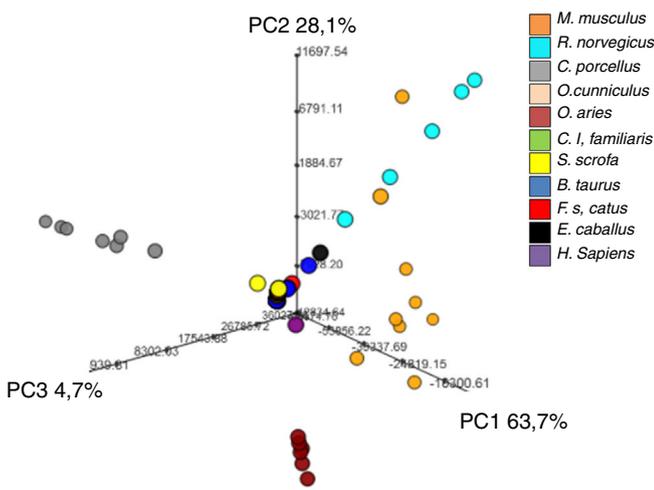


Figura 4. Gráfico tridimensional de PCA que muestra la agrupación de los especímenes/individuos de la misma especie animal en base a las 14 especies lipídicas de DAG que correlacionan con la longevidad máxima.

tuyen los principales componentes de las membranas biológicas, y el contenido de estos varía en función del tipo celular y órgano²³.

Los GFL participan en el mantenimiento de las propiedades estructurales y funcionales de las membranas celulares, así como en

Tabla 3
 Análisis de bosques aleatorios (Random Forest) entre los 14 DAG y la longevidad máxima

	<i>M. musculus</i>	<i>R. norvegicus</i>	<i>C. porcellus</i>	<i>O. cuniculus</i>	<i>O. aries</i>	<i>C. familiaris</i>	<i>S. scrofa</i>	<i>B. taurus</i>	<i>F. catus</i>	<i>E. caballus</i>	<i>H. sapiens</i>	Error de clasificación
<i>M. musculus</i>	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,167
<i>R. norvegicus</i>	1	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1
<i>C. porcellus</i>	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0
<i>O. cuniculus</i>	0	3	0	5	0	0	1	0	1	0	0	0,5
<i>O. aries</i>	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	1	0,0833
<i>C. familiaris</i>	0	0	0	0	0	10	0	0	1	0	1	0,167
<i>S. scrofa</i>	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0,0
<i>B. taurus</i>	0	0	0	0	1	1	0	7	0	0	0	0,222
<i>F. catus</i>	0	0	0	0	0	3	0	0	8	0	1	0,333
<i>E. caballus</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	11	0	0,0833
<i>H. sapiens</i>	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	12	0,2

Financiación

El trabajo ha sido financiado, en parte, por una ayuda del Ministerio Español de Economía y Competitividad (ref. FIS-PI1400328), y por la Generalitat de Catalunya (2017SGR696 y SLT002/00250) a R. Pamplona. El estudio ha sido cofinanciado por los Fondos de la Unión Europea (“Una manera de hacer Europa”).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Agradecimientos

N. Mota-Martorell tiene concedida una beca predoctoral de la Generalitat de Catalunya. I. Pradas tiene concedida una beca predoctoral de la Universitat de Lleida. Nuestro agradecimiento a David Argilés y Maria Rosa Gómez por su soporte técnico.

Anexo. Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.regg.2018.05.006>.

Bibliografía

- Gudbjarnason S, Doell B, Oskarsdóttir G. Docosahexaenoic acid in cardiac metabolism and function. *Acta Biol Med Ger.* 1978;37:777–84.
- Couture P, Hulbert AJ. Membrane fatty acid composition of tissues is related to body mass of mammals. *J Membr Biol.* 1995;148:27–39.
- Pamplona R, Barja G. An evolutionary comparative scan for longevity-related oxidative stress resistance mechanisms in homeotherms. *BioGerontology.* 2011;12:409–35.
- Pamplona R, Portero-Otín M, Riba D, Ruiz C, Prat J, Bellmunt MJ, et al. Mitochondrial membrane peroxidizability index is inversely related to maximum life span in mammals. *J Lipid Res.* 1998;39:1989–94.
- Pamplona R, Portero-Otín M, Riba D, Requena JR, Thorpe SR, Lopez-Torres M, et al. Low fatty acid unsaturation: A mechanism for lowered lipoperoxidative modification of tissue proteins in mammalian species with long life spans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2000;55:B286–91.
- Pamplona R, Portero-Otín M, Ruiz C, Gredilla R, Herrero A, Barja G. Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. *Mech Ageing Dev.* 2000;112:169–83.
- Pamplona R, Prat J, Cadenas S, Rojas C, Pérez-Campo R, López Torres M, et al. Low fatty acid unsaturation protects against lipid peroxidation in liver mitochondria from long-lived species: The pigeon and human case. *Mech Ageing Dev.* 1996;86:53–66.
- Pamplona R, Portero-Otín M, Requena JR, Thorpe SR, Herrero A, Barja G. A low degree of fatty acid unsaturation leads to lower lipid peroxidation and lipoxidation-derived protein modification in heart mitochondria of the longevous pigeon than in the short-lived rat. *Mech Ageing Dev.* 1999;106:283–96.
- Pamplona R, Portero-Otín M, Sanz A, Ayala V, Vasileva E, Barja G. Protein and lipid oxidative damage and complex I content are lower in the brain of budgerigar and canaries than in mice Relation to aging rate. *Age (Omaha).* 2005;27:267–80.
- Hulbert AJ, Faulks SC, Harper JM, Miller RA, Buffenstein R. Extended longevity of wild-derived mice is associated with peroxidation-resistant membranes. *Mech Ageing Dev.* 2006;127:653–7.
- Hulbert AJ, Beard LA, Grigg GC. The exceptional longevity of an egg-laying mammal, the short-beaked echidna (*Tachyglossus aculeatus*) is associated with peroxidation-resistant membrane composition. *Exp Gerontol.* 2008;43:729–33.
- Buttner WA, Battam H, Hulbert AJ. Fowl play and the price of petrel: Long-living Procellariiformes have peroxidation-resistant membrane composition compared with short-living Galliformes. *Biol Lett.* 2008;4:351–4.
- Hulbert AJ, Faulks SC, Buffenstein R. Oxidation-resistant membrane phospholipids can explain longevity differences among the longest-living rodents and similarly-sized mice. *J Gerontol Ser A Biol Sci Med Sci.* 2006;61:1009–18.
- Munro D, Blier PU. The extreme longevity of Arctic islandica is associated with increased peroxidation resistance in mitochondrial membranes. *Aging Cell.* 2012;11:845–55.
- Haddad LS, Kelbert L, Hulbert AJ. Extended longevity of queen honey bees compared to workers is associated with peroxidation-resistant membranes. *Exp Gerontol.* 2007;42:601–9.
- Fuchs S, Bundy JG, Davies SK, Viney JM, Swire JS, Leroi AM. A metabolic signature of long life in *Caenorhabditis elegans*. *BMC Biol.* 2010;8:14.
- Mitchell TW, Buffenstein R, Hulbert AJ. Membrane phospholipid composition may contribute to exceptional longevity of the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*): A comparative study using shotgun lipidomics. *Exp Gerontol.* 2007;42:1053–62.
- Puca AA, Andrew P, Novelli V, Anselmi CV, Somalvico F, Cirillo NA, et al. Fatty acid profile of erythrocyte membranes as possible biomarker of longevity. *Rejuvenation Res.* 2008;11:63–72.
- Jové M, Naudí A, Aledo JC, Cabré R, Ayala V, Portero-Otín M, et al. Plasma long-chain free fatty acids predict mammalian longevity. *Sci Rep.* 2013;3:3346.
- Gonzalez-Covarrubias V, Beekman M, Uh H-W, Dane A, Troost J, Paliukhovich I, et al. Lipidomics of familial longevity. *Aging Cell.* 2013;12:426–34.
- Jové M, Maté I, Naudí A, Mota-Martorell N, Portero-Otín M, de la Fuente M, et al. Human aging is a metabolome-related matter of gender. *J Gerontol Ser A Biol Sci Med Sci.* 2016;71:578–85.
- Hishikawa D, Hashidate T, Shimizu T, Shindou H. Diversity and function of membrane glycerophospholipids generated by the remodeling pathway in mammalian cells. *J Lipid Res.* 2014;55:799–807.
- Van Meer G, Voelker DR, Feigenson GW. Membrane lipids: Where they are and how they behave [Internet]. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;11:24–24.
- Ma S, Gladyshev VN. Molecular signatures of longevity: Insights from cross-species comparative studies. *Semin Cell Dev Biol.* 2017;70:190–203.
- Tomás-Loba A, Bernardes de Jesus B, Mato JM, Blasco MA. A metabolic signature predicts biological age in mice. *Aging Cell.* 2013;12:93–101.
- De Guzman JM, Ku G, Fahey R, Youm Y-H, Kass I, Ingram DK, et al. Chronic caloric restriction partially protects against age-related alteration in serum metabolome. *Age (Omaha).* 2013;35:1091–104.
- Yu Z, Zhai G, Singmann P, He Y, Xu T, Prehn C, et al. Human serum metabolic profiles are age dependent. *Aging Cell.* 2012;11:960–7.
- Jové M, Naudí A, Gambini J, Borrás C, Cabré R, Portero-Otín M, et al. A stress-resistant lipidomic signature confers extreme longevity to humans. *J Gerontol Ser A Biol Sci Med Sci.* 2017;72:30–7.
- Graessler J, Schwudke D, Schwarz PEH, Herzog R, Shevchenko A, Bornstein SR. Top-down lipidomics reveals ether lipid deficiency in blood plasma of hypertensive patients. *PLoS One.* 2009;4:e6261.
- Jové M, Naudí A, Portero-Otín M, Cabré R, Rovira-Llopis S, Bañuls C, et al. Plasma lipidomics discloses metabolic syndrome with a specific HDL phenotype. *FASEB J.* 2014;28:5163–71.
- Shmookler Reis RJ, Xu L, Lee H, Chae M, Thaden JJ, Bharill P, et al. Modulation of lipid biosynthesis contributes to stress resistance and longevity of *C. elegans* mutants. *Aging (Albany NY).* 2011;3:125–47.
- Ma S, Yim SH, Lee S-G, Kim EB, Lee S-R, Chang K-T, et al. Organization of the mammalian metabolome according to organ function, lineage specialization, and longevity. *Cell Metab.* 2015;22:332–43.
- Wijeyesekera A, Selman C, Barton RH, Holmes E, Nicholson JK, Withers DJ. Metabotyping of long-lived mice using ¹H NMR spectroscopy. *J Proteome Res.* 2012;11:2224–35.