

Exclusión del ácido alfa linolénico de la dieta de la rata durante varias generaciones I Efecto en la reproducción y crecimiento postnatal*

Julia Araya A.¹Ana Cagalj K.²

RESUMEN. Se estudia el efecto de alimentar ratas durante 3 generaciones sucesivas con una dieta deficiente en ácido alfa linolénico (18:3w3) en la reproducción y crecimiento postnatal. Las hembras consumieron a voluntad una dieta a la cual se le incorporó aceite de girasol al 10% (dieta deficiente en w3) o aceite de soya (dieta control). Los resultados muestran que bajo estas condiciones experimentales la dieta deficiente disminuyó la fecundidad, fertilidad y crecimiento postnatal y aumentó la mortalidad perinatal en 14.6%, 16.9% y 18.6% (primera, segunda y tercera generación) con respecto al control. El análisis de la composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos de placenta y lípidos de la leche reflejó la composición de los aceites consumidos. Se sugiere la posibilidad de que el 18: 3w3 pueda funcionar de manera diferente al 18: 2w6 en su rol como ácido graso esencial en la reproducción al menos en ratas.

SUMMARY. Exclusion of alpha-linolenic acid from rat diet. I Effect on reproduction and post natal growth. The effects of a dietary alpha-linolenic acid (18: 3w3) deficiency on reproduction and post natal growth in rats during 3 successive generations were studied. Female rats received respectively a diet with sunflower oil at 10% (deficient diet) or a diet with soya oil at 10% (control diet). The results showed that in our experimental conditions deficient diet affects: fecundity, fertility, post natal growth and cause a high rates of perinatal mortality from birth to post partum day 3: Perinatal mortality increased with successive gestation from 14.6% to 18.6% compared with the survival of control. The fatty acid composition of placenta phospholipids and milk lipids reflected the nature of the dietary oil. The possibility that 18: 3w3 might function in a way different from the EFA role of 18: 2w6 in reproduction at least in rats has been discussed.

INTRODUCCION

Cuando Burr y Burr (1) en 1930 demostraron la esencialidad de los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) en la reproducción y crecimiento no hicieron diferencia entre los ácidos grasos de la serie omega 6 (w6) y omega 3 (w3). A partir de entonces, varios autores han demostrado la esencialidad del ácido linoleico 18: 2w6 y de sus derivados más poliinsaturados y de cadena más larga, para asegurar el crecimiento, la reproducción y la lactancia (2), viabilidad del neonato (3) e integridad de la piel (4) en todos los mamíferos. Estos autores y otros (5-6) han señalado que el ácido alfa linolénico (18: 3w3) no reemplaza totalmente al 18: 2w6 asignándole un rol secundario en estas funciones.

Pero la metodología usada por esos investigadores, estuvo basada en un concepto erróneo, ya que juzgaron con el mismo criterio las propiedades de dos nutrientes diferentes, como son los ácidos grasos de la serie w6 y los de la serie w3.

Ni el ácido 18: 2w6, ni el 18: 3w3 pueden ser sintetizados por los animales, por lo que la presencia de estos en

el organismo animal depende de la dieta (7). Ambos ácidos grasos son precursores de derivados más poliinsaturados, estos derivados son importantes constituyentes de los lípidos incorporados a las membranas celulares y no existe interconversión entre una serie y otra (8).

Las dos series compiten en varios aspectos de su metabolismo (elongación, desaturación, síntesis de eicosanoides) (9-10). Si existe inhibición competitiva en el metabolismo de los w6 y w3 precursores, esto debería ser demostrado en ambas direcciones. Efectivamente, la inhibición del metabolismo del 18: 3w3 por el 18: 2w6 fue sugerida por Rahm et al (11), al demostrar experimentalmente que a nivel tisular los derivados del 18: 3w3 disminuyeron cuando se aumentó el aporte dietético del 18:2w6. También se demostró que el aumento dietético del 18:3w3 disminuye los metabolitos del 18: 2w6 en los tejidos (12). Aparentemente en esta competencia los metabolitos de una serie desplazan en los tejidos a los de la otra serie dependiendo del nivel relativo de uno de ellos en la dieta.

De los derivados del 18: 3w3 el ácido docosahexaenoico (DHA) (22: 6w3) es fundamental en muchos tejidos. Los más altos niveles de DHA, se encuentran sin embargo en la corteza cerebral y en la retina (13).

En la búsqueda de un rol esencial específico para los ácidos grasos omega 3 distinto de los omega 6, se han

1 Departamento de Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.
2 Departamento de Ciencias de los Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.
* Financiado parcialmente por Proyecto FONDECYT 1140-91.

EXCLUSION DEL ACIDO ALFALINOLENICO DE LA DIETA DE LA RATA DURANTE VARIAS GENERACIONES

realizado varios estudios en los que se ha provocado deficiencia de estos ácidos grasos en animales de experimentación que han podido evidenciar la esencialidad dietética de los w3.

Neuringer y cols (14), han evidenciado la esencialidad de los w3 en la retina y cerebro. El ácido docosahexaenoico 22: 6w3 es el ácido graso fundamental en estos tejidos.

Uauy y cols (15-16) apoyan la esencialidad del w3 altamente poliinsaturados en los inicios de la vida, demostrando los efectos benéficos de un suplemento dietético de estos ácidos grasos en la función visual de neonatos de muy bajo peso.

En relación a la esencialidad de los omega 3 en la reproducción y crecimiento postnatal, los resultados son controvertidos. Según algunos investigadores el ácido 18: 3w3 estimularía la velocidad del crecimiento de ratas deficientes en ácidos grasos esenciales, pero no curaría la infertilidad (19).

Tinoco y cols (18), han comunicado que el ácido 18: 3w3 no sería esencial para la reproducción ni crecimiento en la rata aún después de someter por 3 generaciones a ratas preñadas a un déficit de omega 3.

Por otra parte, cuando Sinclair y cols (19) alimentaron ratas por generaciones con una dieta baja en grasa (60 g/kg dieta), en la que los ácidos 18: 2w6 y 18: 3w3 contabilizaban sólo el 0.27 y 0.057% de las calorías totales observaron una alta mortalidad de las crías antes del destete.

Guesnet y cols (20) y Bourre y cols (21) al estudiar el efecto de una deficiencia dietética de 18: 3w3, al alimentar ratas por 2 generaciones sucesivas con dietas con aceite de girasol a una concentración de 6 g por 100 g de dieta, comunicaron una alta mortalidad perinatal.

Tanto Sinclair como Guesnet y Bourre utilizaron dietas deficientes en omega 3 pero también bajas en grasa y en omega 6, este último reconocido como esencial para el proceso de la reproducción.

Es probable que para provocar una deficiencia neta de omega 3 en mamíferos sea necesario utilizar dietas con una alta relación w6/w3, lo que podría suprimir la conversión del 18: 3w3 en sus derivados de cadena más larga y más insaturados y así exageran el efecto de una dieta deficiente en w3.

Con estos antecedentes se propone estudiar el efecto de alimentar ratas por 3 generaciones sucesivas con dietas con una cantidad abundante de ácidos grasos omega 6 para

crecimiento y reproducción pero con muy bajas cantidades de ácidos grasos omega 3 en la fertilidad, viabilidad perinatal y crecimiento postnatal.

MATERIALES Y METODOS

Dietas:

La composición de las dietas experimentales se informa en la Tabla 1.

La dieta Control se preparó con aceite de soya al 10% (10 g/100 g dieta): 100 gramos de esta dieta proporcionaron 5590 mg de 18: 2w6 y 740 mg de 18: 3w3. La dieta deficiente se preparó al 10% con aceite de girasol que es alta en 18: 2w6; cada 100 gramos de esta suministraron 7200 mg de 18: 2w6 y sólo 10 mg de 18: 3w3.

La composición de los ácidos grasos de los aceites de soya y girasol analizados para este estudio se informan en la Tabla 2. Con el propósito de no modificar en la dieta la proporción de los ácidos grasos originales de los aceites, se extrajo la grasa, a la caseína que se usó como fuente de proteínas en las dos dietas experimentales.

Las dietas se prepararon 2 veces cada semana y se guardaron en ambiente de N a -80° C hasta su uso.

Una vez al día se sacaba del congelador la cantidad que sería asignada a cada rata de cada grupo, evitando así cualquier posibilidad de deterioro de los lípidos de las dietas.

Animales:

Diseño aplicado a 3 generaciones sucesivas. La experiencia se inició en 50 ratas hembras cepa Wistar con 30 días de edad. Se dividieron en dos grupos equivalentes. Cada grupo y su descendencia se alimentó siempre y durante todo el lapso experimental sólo con una de las dos dietas. El grupo Control (C), consumió *ad libitum* la dieta con aceite de soya; el grupo deficiente (D w3) consumió *ad libitum* la dieta con aceite de girasol.

Cuando las ratas de ambos grupos cumplieron 60 días de edad, se cruzaron con machos controles, previa detección en las hembras de la fase proestro en el frotis vaginal y posteriormente la presencia de espermios en la vagina. Las ratas preñadas y luego después del parto las nodrizas, se ubicaron en jaulas individuales con libre acceso a su respectiva dieta inicial y al agua de bebida. Las crías de estas ratas madres dieron origen a la generación N° 1. Esta primera generación fue destetada a los 21 días a la dieta de su respectiva madre y a los 60 días de edad se cruzaron.

Esto se repitió durante 3 generaciones sucesivas con el propósito de provocar un estado deficiente en w3 máximo; por manipulación dietética en el grupo designado Dw3.

Las condiciones del vivero fueron a 25° C temperatura ambiental 75% de humedad, 12 horas de obscuridad y 12 horas de luz. Inmediatamente después del parto de cada generación se pesaron las crías y se registró el número de individuos en la camada, incluidos los eventuales mortinatos. Se midió diariamente el consumo de la dieta de cada rata madre y crías desde el destete en cada grupo de las 3 generaciones.

Al tercer día postparto el número de crías se uniformó de 8 crías por camada en las generaciones del grupo C y en aquellas del grupo Dw3, donde excepcionalmente se llegó a 8 crías por camada.

Las preñadas, las nodrizas y sus crías se pesaron separadamente cada 3 días. El número de las crías se contabilizó diariamente. Se sacrificaron sólo ratas macho de 21 días de cada generación para estudiar la composición de los ácidos grasos de sus órganos, los que fueron liofilizados y guardados a -80° C y gaseados con N. Estos resultados se informarán posteriormente.

Se sacrificaron ratas preñadas con 20 días de edad postgestación de primera y segunda generación, para extraer las placentas y contabilizar el número de fetos en útero. Las placentas extraídas se pesaron y liofilizaron y guardaron a -80° C para su posterior análisis.

Se extrajo leche de las nodrizas de primera, segunda y tercera generación, por ordeña a los 16 días postparto. Para proceder, las nodrizas se separaron de las crías durante la noche (12 horas). Antes de ordeñar las ratas fueron anestesiadas con una inyección intramuscular de 30 mg/Kg de clorhidrato de Ketamina (Parke Davis and Co. Detroit MI), y se estimuló la secreción láctea con una inyección de oxitocina 0.14 UI/Kg (Sanderson Res. ISP 3246). La ordeña se realizó usando un dispositivo para succión al vacío similar al descrito por Mc Burney et al (23). La leche recolectada de cada nodriza fue de alrededor de 4 ml y tomó un tiempo aproximado de 10 a 45 minutos.

Las leches se liofilizaron y se guardaron gaseadas con N a -80° C para su posterior análisis.

Extracción de los lípidos y análisis de la composición de los ácidos grasos.

Placenta y Leche: Los lípidos de placenta y leche liofilizada se extrajeron utilizando la técnica de Blich and Dyer (25). Se pesó 1 gramo de muestra liofilizada y se homogenizó en un volumen final de 20 ml de una mezcla de solventes preparada con cloroformo-metanol-agua 1:2:0.8 (v/v/v) que contenía 0.05% de hidroxitolueno butilado (BHT), se centrifugó. El sobrenadante se mezcló con cloroformo y agua para formar fases acuosa-cloroformo. Los lípidos extraídos por la fase cloroformo se separaron en

cuatro clases (fosfolípidos, ácidos grasos libres, triglicéridos y ésteres del colesterol) por cromatografía en capa fina silica gel G (26).

El sistema de solventes usado en la cromatografía fue hexano-cloroformo-éter etílico-ácido acético 80:10: 10:1 (v/v/v/v). Los fosfolípidos separados de la placa se rasparon y sus ácidos grasos se transmetilaron con BF₃, en metanol (27). Los ésteres metílicos de los ácidos grasos de los fosfolípidos fueron analizados por cromatografía gas-líquido (28), en un instrumento equipado con un detector de llama (Perkin-Elmer model Sigma 3B, Norwalk, CT) y una columna capilar de silica de 30 mesh SP 2330 (Supelio, Bellefonte, PA). La temperatura de la columna, del detector y la entrada de la inyección fueron de 195°, 250° y 250° C respectivamente. Se usó helio como gas transportador a una velocidad de 35 ml por segundo.

Los tiempos de retención y el área de cada peak se midieron en un integrador HP-3390, y en un computador (HP8J, Hewlett Packard, Palo Alto, CA), lo que identificó y cuantificó cada ácido graso individualmente. Para establecer los tiempos de retención de cada ácido graso, estos se compararon con el cromatograma de una mezcla de ácidos grasos auténticos realizado bajo las mismas condiciones.

Aceites: La composición de los ácidos grasos de los aceites incorporados en las dietas se analizó directamente utilizando método de Metcalfe (29); los ésteres metílicos se analizaron en un cromatógrafo gas líquido (Konick 2000-C Spectro/Physic SP 4290), usando como gas transportador nitrógeno a una velocidad 40 ml por minuto.

Análisis Estadístico: los resultados se presentan como promedios \pm desviación estándar de 8 determinaciones en cada grupo y de cada generación. El análisis estadístico corresponde a un análisis de varianza con dos factores: dieta (soya versus girasol) y generación (0.1 y 2). El P indica las diferencias entre grupos e intra grupo, se consideró $p < 0.05$ como indicador de diferencia significativa. Todos los análisis se realizaron en un computador Epsom usando software.

RESULTADOS

La ganancia de peso de las ratas preñadas (g/21 d) y nodrizas (g/18 d) y sus respectivas ingestas (g/d), en el grupo Dw3 y C se informan en Tabla 3. Al analizar los resultados entre grupos y generaciones se encontraron valores comparables. El consumo de una dieta deficiente en w3 durante generaciones sucesivas afectó la reproducción en ratas. La Tabla 4 da cuenta de la fecundidad (porcentaje de ratas preñadas de las cruzadas) y la fertilidad (número de crías por camada nacidas vivas) en los grupos experi-

EXCLUSIÓN DEL ACIDO ALFALINOLENICO DE LA DIETA DE LA RATA DURANTE VARIAS GENERACIONES

TABLA 1
COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Ingredientes	Control	Deficiente
	(Aceite soya)	(Aceite girasol)
	g/Kg dieta	
^a Caseína	200	200
DL metionina	1.6	1.6
Celulosa	20	20
Almidón de maíz	478.4	478.4
Chuño	150	150
Aceite de soya	100	-
Aceite de girasol	-	100
^a Mezcla mineral	40	40
^b Mezcla vitaminas	10	10
w6/w3	7.5	722

a Caseína delipidada

b Ver Referencia 21 (Composición de las mezclas mineral y vitamínica.).

TABLA 2
COMPOSICION PORCENTUAL DE LOS ACIDOS GRASOS DEL ACEITE DE SOYA Y DEL ACEITE DE GIRASOL^o

Acidos grasos	Aceite soya	Aceite girasol
	Porcentajes de los ésteres metílicos	
14:0	0.1	Trazas
16:0	11.5	6.2
16:1 w 9	0.1	Trazas
18:0	3.9	5.3
18:1 w 9	20.1	15.2
18:2 w 6	55.9	72.2
20:0	0.5	0.3
18:3 w 3	7.4	0.1
22:0	0.4	0.5
22:1 w 11	Trazas	0.0

^o Analizados en un cromatógrafo gas líquido Konik 2000 C, con N₂ como gas transportador a una velocidad de 40 ml por minuto.

mentales. Se muestra en esta tabla que la fecundidad del grupo Dw3 fue el 60%, 50% y 40% de lo observado en el grupo C, de primera, segunda y tercera generación respectivamente.

La fertilidad también disminuyó significativamente en el grupo Dw3. La mortalidad perinatal (crías que mueren entre el primer y tercer día postnatal) fue aumentado de generación en generación en el grupo Dw3 siendo signi-

ficativamente más alta en la tercera generación si se compara con la generación paralela del grupo C.

En la Tabla 5 se informa el peso de nacimiento y postnatal hasta el día 18, puede observarse que el tipo de dieta disminuyó el peso de nacimiento siendo significativamente menor en el grupo girasol. Al 5º día tanto la dieta como la generación influyeron en el peso de las crías del grupo que consumió dieta con aceite de girasol.

TABLE 3
EFECTO DE UNA DIETA DEFICIENTE EN ACIDO ALFALINOLENICO (18:3W3) EN LA GANANCIA DE PESO MATERNO E INGESTA DE DIETA DURANTE LA PREÑEZ Y LACTANCIA EN GENERACIONES SUCESIVAS DE RATAS

GRUPO GENERACIONES	SOYA			GIRASOL		
	G ₀	G ₁	G ₂	G ₀	G ₁	G ₂
Ganancia de peso (g/21 días)	105	±	9.6	93 ± 6.4	108 ± 3.6	107 ± 9.5
Ingesta dieta (g/día)	15	±	1.5	13.2 ± 1.1	13.5 ± 1.0	14.6 ± 0.60
Lactancia Generaciones	G ₀	G ₁	G ₂	G ₀	G ₁	G ₂
Cambio de peso (g/21 días)	+17.8	±	8.0	18.2 ± 4.1	13.0 ± 2	18.6 ± 8
Ingesta dieta (g/dieta)	38.9	±	1.4	40.1 ± 0.5	29.4 ± 2.9	32.2 ± 5.8

Los valores son promedio ± desviación estándar de 25 observaciones en cada grupo y en cada generación

La composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos de placentas de ratas preñadas de segunda generación alimentadas con dietas deficientes en ácido alfa linoléico y controles aparece en Tabla 6; observándose una caída significativa de los ácidos grasos de la serie w3, particularmente el 22: 6w3 y un significativo aumento del 22: 5w6 en el grupo Dw3. La relación w6/w3 en los lípidos de placenta del grupo Dw3 fue 4.6 veces la de los lípidos de placentas del grupo C.

El análisis de la composición de los ácidos grasos de la leche de ratas nodrizas de los grupos Dw3 y C de segunda generación se da a conocer en Tabla 7. La leche del grupo Dw3 contiene una significativa menor cantidad de ácidos grasos omega 3 muy especialmente 18: 3w3 y 22: 6w3. la relación w6/w3 de las leches del grupo Dw3 fue 10 veces más alta que la leche del grupo C.

DISCUSION

Los resultados de este estudio demuestran que una deficiencia de ácido alfa linoléico, 18: 3w3 en la dieta consumida por la rata durante varias generaciones afectó: la fecundidad, la fertilidad, la viabilidad perinatal y el crecimiento postnatal.

Estos hallazgos están de acuerdo en parte con los de Guesnet y cols (20) y Sinclair y cols. (19) quienes comunicaron una alta mortalidad perinatal en ratas que por 2

generaciones consumieron dietas muy bajas en grasa y en ácidos grasos esenciales. Sin embargo, estos investigadores bajo sus condiciones experimentales, no observaron alteraciones en la fecundidad ni en la fertilidad. La diferencia entre el diseño experimental de Guesnet y Sinclair y este diseño, es que aquí se utilizó una dieta adecuada en grasa (10%) y con un alto contenido de 18: 2w6 y solo trazas de w3.

Preparamos esta dieta con el propósito inicial de lograr al ser consumida por generaciones sucesivas una máxima disminución de los derivados altamente poliinsaturados del ácido 18: 3w3, especialmente del docosahexaenoico (DHA) en órganos fetales; y de esta manera obtener un modelo experimental en donde pudiéramos medir posteriormente la potencialidad de dietas que contienen 18: 3w3 o sus derivados altamente poliinsaturados como el DHA, en la recuperación compensatoria del déficit del DHA tisular.

El hallazgo inesperado del efecto de una deficiencia exclusiva de omega 3 de la dieta en la performance reproductiva, nos estimuló para publicar este hecho y seguir investigando este problema, que surgió casualmente.

El análisis químico de los ácidos grasos de los fosfolípidos de la placenta y de los lípidos de la leche, reflejó la composición de los ácidos grasos de la dieta consumida por las ratas de cada grupo. O sea que una dieta con un alto contenido en omega 6 y deficiente en omega 3 logró alterar

EXCLUSION DEL ACIDO ALFALINOLENICO DE LA DIETA DE LA RATA DURANTE VARIAS GENERACIONES

la composición de los ácidos grasos del órgano fetal y del fluido materno, inclinando la balanza hacia el mayor contenido de los derivados del w6 versus w3.

El reemplazo de los derivados del 18: 3w3 por 22: 5w6 en los lípidos de la placenta en el grupo deficiente, concuerda con lo comunicado por Bourre y cols (30) en cerebro de ratas que se alimentaron con dietas deficientes en omega 3.

El aumento del consumo de omega 6 provocó un imbalance en los lípidos de la placenta, dejando a ese órgano con una mayor disponibilidad de omega 6 y menor contenido de w3. No se sabe si la incorporación de omega 3 podría tener algún significado en el rol funcional de las membranas donde se origina este reemplazo.

Bell y cols (31) han comunicado efectos deletéreos en la salud de pescados salmonídeos, cuando fueron alimentados con una dieta que contenía aceite de girasol rico en w6;

estableciendo que una dieta con una baja relación w3/w6 originó una acumulación de 20: 4w6 en los fosfolípidos de algunos órganos, desarrollándose severas lesiones cardíacas y necrosis muscular las que causaron la muerte cuando los peces fueron sometidos a un esfuerzo.

Cuando Kummerov y cols (33) en 1952 comunicaron una alta mortalidad perinatal en ratas cuyas madres consumieron dieta sin grasa, vieron que este efecto era remediado por la incorporación de aceite de maíz a la dieta que contiene 18: 3w3 (2%), sin embargo ellos atribuyeron el efecto benéfico en la performance reproductiva sólo al contenido de 18: 2w6 de ese aceite.

Sanders y cols (34) han comunicado que una dieta alta en ácido linoleico enriquece en araquidónico y desplaza a los 20: 5w3 y 22: 6w3 de las membranas de plaquetas, alterando el balance entre la producción de tromboxanos y prostaciclinas.

TABLA 4
EFECTO DE LA DEFICIENCIA DEL ACIDO ALFALINOLENICO DE LA DIETA MATERNA
EN LA REPRODUCCION EN RATAS

Características		Fertilidad ^a (n)	Fecundidad ^b (%)	Mortalidad Perinatal ^c (%)
Generación 1	S	11.8 ± 0.95	94.0 ± 8.94	5.3 ± 0.26
	G	7.2 ± 1.2	60.0 ± 15.0	14.6 ± 2.11
Generación 2	S	11.1 ± 0.89	91.6 ± 8.17	5.3 ± 0.27
	G	7.8 ± 0.89	50.0 ± 10.0	16.4 ± 3.2
Generación 3	S	11.2 ± 1.21	94.4 ± 6.22	5.3 ± 0.27
	G	6.2 ± 1.30	40.0 ± 15.0	18.1 ± 4.10
Valor P	D << 0.001		D << 0.001	D << 0.001
	G < 0.19		G < 0.17	G < 0.22
	D x G < 0.12		D x G < 0.25	D x G < 0.21

Los valores son promedio ± desviación estándar de 25 camadas por grupo y por generación.

S = Soya

G = Girasol (deficiente w3)

a Fertilidad: Número de crías por camada (n)

b Fecundidad: Porcentaje de hembras preñadas de las realmente cruzadas (%)

c Mortalidad perinatal: Mortalidad desde el 1er a 3er día de vida postnatal

D = Dieta

G = Generación

D x G = Dieta por generación (intra grupo)

TABLA 5
EFECTO DE LA DIETA MATERNA DEFICIENTE EN ACIDO ALFA LINOLÉNICO (18:3W3) EN EL CRECIMIENTO DE LAS CRIAS DESDE EL NACIMIENTO AL DIA 18 DE VIDA POSTNATAL EN RATAS

Grupo		Soya	Girasol		
Generaciones		G1,G2,G3	G1	G2	G3
P O S C R I A S (g)	Al nacer	6.4 ± 0.13	5.3 ± 0.92	5.5 ± 0.67	5.8 ± 0.58
	3 días	10.1 ± 0.48	8.0 ± 0.72	8.3 ± 0.63	7.9 ± 0.29
	5 días	12.5 ± 0.46	10.3 ± 0.45	9.0 ± 0.42	9.9 ± 0.32
	18 días	38.1 ± 1.32	31.2 ± 1.15	31.4 ± 0.95	30.4 ± 1.84
		Dieta	Generación	D x G (intra grupo)	
p	Al nacer	<< 0.001	< 0.38	< 0.41	
	3 días	<< 0.001	< 0.32	< 0.56	
	5 días	<< 0.001	< 0.001	< 0.001	
	18 días	<< 0.001	< 0.55	< 0.58	

o Valor promedio ± desviación estándar de los pesos (g) de las crías de 8 ratas madres por grupo y generación

TABLA 6
EFECTO DE LA DEFICIENCIA DE ACIDO ALFA LINOLÉNICO DE LA DIETA EN LA COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS DE LOS FOSFOLIPIDOS DE PLACENTAS DE RATAS^o

Grupo	Soya	Girasol
Generación	G2	G2
Acidos Grasos:		
Saturados	^{oo} 42.7 ± 0.70	42.8 ± 1.90
Monoinsaturados	13.9 ± 1.10	11.8 ± 0.70
18 : 2 w 6	17.6 ± 0.50	17.1 ± 0.40
20 : 2 w 6	0.5 ± 0.10	0.8 ± 0.10
20 : 3 w 6	1.2 ± 0.20	0.3 ± 0.10
20 : 4 w 6	14.5 ± 0.30	13.2 ± 0.40
22 : 4 w 6	2.0 ± 0.15	2.9 ± 0.30
22 : 5 w 6	s0.5 ± 0.10	g7.7 ± 0.20
Suma w6	s36.3 ± 1.20	g42.1 ± 1.30
18 : 3 w 3	TR	0.3 ± 0.10
20 : 5 w 3	0.3 ± 0.01	0.6 ± 0.10
22 : 5 w 3	0.7 ± 0.10	0.3 ± 0.01
22 : 6 w 3	s4.8 ± 0.10	g0.2 ± 0.05
Suma w3	s5.8 ± 0.20	g1.5 ± 0.30
w6/w3	6.2	28.0

o Placentas de 6 ratas preñadas de segunda generación con 20 días de edad.

oo Valor promedio de 8 determinaciones, cada determinación utiliza en el contenido de lípidos de 12 placentas.
s versus g p < 0.05

EXCLUSIÓN DEL ACIDO ALFALINOLENICO DE LA DIETA DE LA RATA DURANTE VARIAS GENERACIONES

TABLA 7
COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS DE LECHE DE RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS
CON ACEITES DE GIRASOL O SOYA

Acido graso	L E C H E °	
	Dieta soya	Dieta girasol
	Porcentajes de los ésteres metílicos	
Saturados	^o 23.1 ± 1.0	27.8 ± 1.1
Monoinsaturados	^s 37.3 ± 1.1	^g 23.7 ± 1.1
18 : 2 w 6	^s 30.3 ± 1.5	^g 43.8 ± 1.5
20 : 4 w 6	0.96 ± 0.10	1.2 ± 0.10
Suma Omega 6	^s 33.6 ± 0.90	^g 46.8 ± 1.0
18 : 3 w 3	^s 3.6 ± 0.10	^g 0.80 ± 0.1
20 : 5 w 3	^s 0.80 ± 0.10	^g 0.05 ± 0.02
22 : 6 w 3	^s 2.40 ± 0.32	^g 0.05 ± 0.01
Suma Omega 3	^s 6.8 ± 8	^g 0.91 ± 0.1
Relación w6/w3	4.9	51.4

o Leche de ratas nodrizas de segunda generación.

o o Valor promedio ± desviación estándar de la leche extraída a 8 ratas por grupo.
s versus g p < 0.05

Frecuentemente las acciones de los eicosaenoides de una familia (w6) están en dirección opuesta a las de otra familia (w3). Esto lleva a la teoría de que los eicosaenoides de ambas series juegan un importante rol en la mantención de la homeostasis en muchos órganos y sistemas.

Esto a su vez implica que las respuestas fisiológicas que son sensibles a la cantidad o clase de prostaglandinas podrían estar siendo modificadas por el tipo de ácido graso de la dieta.

El compromiso de los eicosaenoides en el sistema reproductivo nos conduce a formular conjeturas sobre si una deficiencia de omega 3 o un exceso de omega 6, o una alta relación w6/w3 provocarían un imbalance en la biosíntesis de esta serie de potentes reguladores celulares originando ciertas condiciones patológicas responsables de los efectos observados en esta investigación.

La posibilidad del efecto benéfico de los omega 3 en la función reproductiva por su rol como precursores de cierto tipo de eicosaenoides necesita ser estudiado a futuro.

La muerte perinatal no aconteció más allá del tercer día postnatal y este pudo ser causado por un distres respiratorio

deducido por el color cianótico de las crías muertas. Nakamura y cols (35), demostraron que una deficiencia de ácidos grasos esenciales disminuye los ácidos grasos omega 6 y omega 3 en la fosfatidilcolina del pulmón, pero que la disminución de ambos ácidos grasos se revirtió después de la administración de una dieta, que contenía aceite de cártamo haciendo presumir la necesidad de omega 3 en los fosfolípidos del pulmón durante su maduración.

Budowsky y Crawford (36), visualizan al 18: 3w3 como regulador del metabolismo del 18: 2w6 y del 20: 4w6 por la inhibición competitiva del 18: 3w3 en la conversión del 18: 2w6 a 20: 4w6, dando como resultado una menor cantidad de sustratos disponibles para la producción de prostaglandinas y tromboxanos. La excesiva producción de los eicosaenoides de la familia omega 6 puede tener consecuencias perjudiciales, las que han sido observadas en varias oportunidades. Una inyección endovenosa de 20: 4w6 a conejos originó agregación plaquetaria pulmonar y la muerte súbita (37), así como infarto en la rata (38).

Se necesita investigar más a futuro para tener una explicación a nivel molecular del rol de los omega 3 en el proceso de la reproducción.

REFERENCIAS

1. Burr, G. O. and Burr, M. M. On the nature and role of fatty acids essential in nutrition. *J. Biol. Clin.* 86:587-621. 1930.
2. Mc Kenzie, C. G., Mc Kenzie, J. B., Mc Collum, E. V. Growth and reproduction on a low fat diet. *Biochemistry*; 33: 935-939. 1939
3. Quackenbush, F. W., Kummerow, F. A., Steenback, H. The effectiveness of linoleic, arachidonic and linolenic acids on reproduction and lactation. *J. Nutr.* 24: 213-224. 1942
4. Mohehauer, H., and Holman, R. T. The effect of dose level of essential fatty acids upon fatty acid composition of the rat liver. *J. Lipid Res.* 4:151-159. 1963.
5. Kummerow, F. A.; Pan, H. P., Hickman, H. The effect of dietary fat on the reproductive performance and the mixed fatty acid composition of fat deficient rats. *J. Nutr.* 46:489-498. 1952
6. Jorgensen, A.E., Holmer, G. Essential fatty acid deficient rats: growth and testes development. *Lipids* 4:301-506.1969
7. Neuringer, M., Connor, W. E., Lin, D. S. et al. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal w3 fatty acid deficiency on retina and brain in rhesus monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:4021-4025. 1986
8. Crawford, M. A. Background to essential fatty acids and their prostanoid derivatives. *Brit. Med. Bull.*; 39:210-213. 1983
9. Sprecher, H. Biochemistry of essential fatty acids. *Prog. Lipid. Res.* 20:13-22. 1981
10. Simopoulos, A. P. Omega 3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.* 54:438-463. 1991
11. Rahm, J. J., and Holman, R. T. Effect of linoleic acid upon the metabolism of linolenic acid. *J. Nutr.* 84:15-19. 1964
12. Brenner R. R. Reciprocal interactions in the desaturation of linoleic acid into gamma-linolenic acid and eicosa 8, 11, 14 trienoic into arachidonic acid. *Lipids acids*.4:621-623.1969
13. Andersons, G. J., Connor, W. E., Corliss, J. D. Docosahexaenoic is the preferred dietary omega 3 fatty acid for the development of the brain and retina. *Pediatr. Res.* 27:89-97.1990.
14. Neuringer, M. and Connor, W. E. Omega 3 fatty acids in the brain and retina: Evidence for their essentiality. *Nutr. Rev.* 44:285-294. 1986
15. Uauy, R. D., Birch, D. G., Birch, E. E. and cols. Effect of dietary omega 3 fatty acids on retina function of very low-birth weight neonates. *Pediatr. Res.* 28:485-492.1990
16. Uauy, R. D., Birch, D. G., Birch, E. E. and cols. Effect of dietary omega 3 acids on eye and brain development in very low birth weight neonates. Abstract Nº 1 III International Conference on the health effects of omega 3 polyunsaturated fatty acids in seafood. Washington D. C., USA. 1990
17. Tinoco, J. R., Babcock, I., Hincenbergs, B. and cols. Linolenic acid deficiency. *Lipids* 14:166-173. 1979
18. Tinoco, J., Williams, M. A., Hincenbergs, I. and cols. Evidence for non assentiality of linolenic acid in the diet of the rat. *J. Nutr.* 101: 937-946. 1971
19. Sinclair, A. J. and Crawford, M. A. The effect of a low fat maternal diet on neonatal rats. *Br. J. Nutr.* 29:127-137.1973
20. Guesnet, Ph., Pascal, G. and Durand, G. Dietary alfa linolenic acid deficiency in the rat. I Effects on reproduction and postnatal growth. *Reprod. Nutr. Develop.* 26:969-985.1986.
21. Bourre, J. M., Durand, G., Pascal, G. and cols. Brain cell and tissue recovery in rats made deficient in omega 3 fatty acids by alteration of dietary fat. *Lipids* 119:15-22. 1989
22. Araya, J., Vera, G., Araya, H., Arteaga, A. Efecto del aumento de los ácidos grasos poliinsaturados dietéticos en el contenido de glutatión en riñón de ratas. *Rev. Med. Chile.* Aceptado para su publicación 1992.
23. Mc Burney, J. J., Meir, H., and Hoag, W. Device for milking mice. *J. Lab. and Clin. Med.* 64:485-487. 1964
24. Association of Official Agricultural Chemist. Official Methods of Analyses of the AOAC, 13 Ed. Washington D.C.; 778, 1980.
25. Bligh, E. S., and Dyer, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian J. of Biochem and Physicol* 37:911-917. 1959
26. Connor. E. W. and Lin. D. S. Placental transfer of cholesterol 414 C into rabbit and guinea pig fetus. *J. Lipid Res.* 8:558-564. 1967
27. Morrison, W. R., and Smith, L. M. Preparation of fatty acid metil esters and dimethylacetals from lipids with boronfluoride metanol. *J. Lipid Res.* 5:600-608. 1964
28. Rapp, J. H., Connor, W. E., Lin, D. S., Inahara, T. and Porter, J. M. Lipid of human atherosclerotic plaques and xantomias: clues to the mechanism of plaque progression. *J. Lipid Res.* 24:1329-1335.1983
29. Metcalfe, L. D. and Schmidt, A. A. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatografic analysis. *Anal. Chem.* 33:363-364.1961.
30. Bourre, J. M., Durand, G., Pascal, G. and Youyou, A. Brain cell recovery in rats made deficient in n3 fatty acids by alteration of dietary fat. *J. Nutr.* 119:15-22. 1989
31. Bell, J. G., Mc Vicar, H. A., Park, M. T., and Sargent, J. R. High dietary linoleic acid affects the fatty acid composition of individual phospholipids from tissue of atlantic salmon (*Salmosalar*): Association with stress susceptibility and Cardiac lesion. *J. Nutr.* 121:1163-1172.1991
32. Garg, M. L., Thomson, B. R. and Clandinin, M. T. Effect of dietary cholesterol and/or w3 fatty acids on lipid composition and delta 5 desaturase activity of rat liver microsomes. *J.Nutr.* 46:489-498. 1952
33. Kummerow, F. A., Pan, H. P. and Clandinin, M. T. Effect of dietary fat on the reproductive performance and the mixed fatty acid composition of fat-deficient rats. *J. Nutr.* 46:489-498. 1952
34. Sanders, T. A., Chua, E. and Bolster, N. R. Effect of linolenic acid intake on tromboxane and prostacyclin production in rats receiving dietary eicosapentaenoic (20 : 5 w 3) and docosahexaenoic (22:6w3) acids. *J. Nutr.* 42 : 99 A (Abstract) 1982.
35. Nakamura, M.; Kawamota, T., Akino, T. Dietary regulation of dipalmitoyl-phosphatidyl choline in the lung. Effects of essential fatty acid deficiency. *Biochim. Biophys. Acta.* 620: 24-36. 1980.
36. Budowsky, P. and Crawford, M. A. Alfa linolenic acid as a regulator of the metabolism of arachidonic acid: dietary implication of the ratio w6/w3 fatty acids. *Proc. Nutr. Soc* 44:221-229.1985

Recibido: 23-01-1992

Aceptado: 05-04-1993