

Efecto de la suplementación dietética con aceite de soya o marino en la reversibilidad de la deficiencia de ácido docosahexaenoico (22:6w3) en el cerebro y eritrocitos de ratas¹

Julia Araya^{*}, Paz Robert^{**} y Cecilia Barriga^{**}

RESUMEN. Se evalúa la capacidad potencial de un suplemento dietético, de aceite de soya, fuente de ácido alfa linoléico (18:3w3:AL), o aceite marino, fuente de ácido docosahexaenoico (22:6w3; DHA), en la dieta de la nodriza, en la corrección de los niveles disminuidos de DHA, en los fosfolípidos de cerebro y glóbulos rojos de la progenie de ratas deficientes en omega 3.

Ratas preñadas deficientes en ácidos grasos omega 3, se dividen al momento del parto, en tres grupos. Un grupo sigue consumiendo, durante la lactancia la dieta deficiente en omega 3, los otros dos grupos, se alimentan con dietas suplementadas con aceite de soya o marino, durante el mismo período. Los resultados informan que, un suplemento de 114 mg. de DHA, por 100 gramos en la dieta materna, logró aumentar el contenido de DHA, en la leche, lo que permitió normalizar los niveles de DHA, en el cerebro y glóbulos rojos de sus crías a los 18 días de edad post natal. Un suplemento de 700 mg. de AL por 100 gramos de dieta, no aumentó, el contenido de DHA ni en la leche ni en los glóbulos rojos, pero aumentó el DHA en el cerebro, a la mitad del valor del control.

Se postula una capacidad limitada del neonato, para sintetizar DHA a partir de AL, corroborando la esencialidad del DHA preformada, en esta etapa de la vida, por lo menos en la rata.

SUMMARY. Reversal of brain and erythrocytes omega-3 docosahexanoic acid deficiency in the suckling ratas by maternal dietary supplement containing either soybean oil or fish oil. This study was undertaken, to evaluate the effects of dietary supplements containing either soybean oil (19:3w3; ALA), or fish oil (22:6w3; DHA), added to the lactating rat dam diet, on the levels of DHA in brain and erythrocytes of DHA deficient pups. Pregnant rats fed omega 3 deficient diets were divided at parturition into three groups. One group was kept on the same diet fed during pregnancy. The two remaining groups received the above mentioned omega 3 supplements. These feeding regimens were maintained during 18 days. Supplementation of diet with 114 mg DHA/100g diet, increased significantly the concentration of DHA in brain and erythrocytes of the suckling rats. In contrast, the effects of the supplementation with ALA (700 mg/100g diet), were limited to the increase of DHA content in the brain. This increase however, was partial, reaching only 50% of the normal. Results suggest that newborn rat has a limited capacity to convert DHA from ALA, becoming dependent of preformed DHA supply to cover DHA requirements at the cellular level.

INTRODUCCION

La esencialidad nutricional del ácido graso, linoleico (18:2w6:L), fue demostrado en ratas, por George and Mildred Burr en 1929 (1). Se ha documentado que L es el precursor, del

ácido araquidónico (20:4w6;AA), que es sustrato esencial para la síntesis de eicosaenoides, de la serie omega 6 (w6), (2). AL, que es un ácido graso omega 3 (w3), no fue considerado un ácido graso esencial (AGE), para la rata y humanos porque, él no hizo desaparecer todos los síntomas, por deficiencia de AGE, y porque su deficiencia en la dieta, no generó el clásico síndrome de deficiencia de AGE (3,4).

Durante los últimos 15 años, se han acumulado bastantes evidencias, sobre la esencialidad nutricional de los omega 3; esto incluye no sólo al AL, sino además a sus derivados de cadena más larga y más poliinsaturados: el ácido docosahexaenoico (22:5w6; DHA) y eicosapentaenoico

¹ Financiado parcialmente por Proyecto FONDECYT Nº 1014-92.

^{*} Dpto. de Nutrición. Profesor Titular. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

^{**} Dpto. de Química de los Alimentos. Ayudante Primero, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Universidad de Chile.

^{**} Bioquímico. Laboratorio de Lípidos, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

(20:5w3; EPA), este último precursor inmediato de eicosaenoides de la serie w3. La corteza cerebral y la retina son ricos en DHA, constituyendo éste, un tercio de los ácidos grasos en los fosfolípidos de la materia gris (5). Una deficiencia específica de omega 3 en mamíferos, ha sido difícil de definir y detectar, sin embargo se ha demostrado que, las ratas deficientes en DHA, muestran una menor capacidad exploratoria, una pobre capacidad para discriminar y una agudez visual disminuida (6,7).

En estudios anteriores, hemos comunicado que dietas deficientes en ácidos grasos omega 3 y altas en ácidos grasos omega 6, que han sido consumidas por ratas hembras durante 3 generaciones sucesivas, disminuyeron el nivel de DHA en tejidos y órganos fetales y en la leche (9), indujeron una alta mortalidad perinatal, en las crías (10), y provocaron alteraciones estructurales degenerativas en las capas externas de la retina (11).

Connor W y cols. (12), concluyen que la corteza cerebral de monos, con deficiencia experimental del DHA, tiene una gran capacidad bioquímica para corregir dicha deficiencia, a través de suplementos dietéticos de aceites de pescado; y que el recambio del DHA en cerebro, eritrocitos y plasma, son comparables.

El propósito de este estudio, fue medir la capacidad potencial, de los aceites de soya o marino, incorporados como suplementos en la dieta materna, para compensar la deficiencia de DHA, en los cerebros y eritrocitos de crías lactantes, las que han desarrollado deficiencia de DHA, durante su desarrollo intrauterino. Además, conocer si los cambios del DHA en la corteza cerebral se ven reflejados en la composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos del glóbulo rojo.

MATERIAL Y METODOS

Dietas

La composición de los ácidos grasos de los aceites usados como suplementos y el contenido porcentual de los ingredientes con que se prepararon las dietas experimentales, se exponen, en Tablas 1 y 2 respectivamente.

TABLA 1
COMPOSICION PORCENTUAL DE LOS ESTERES METILICOS DE LOS ACIDOS GRASOS DE ACEITE DE SOYA GIRASOL Y PESCADO

| ACIDOS GRASOS | A C E I T E S | | |
|---------------|--------------------|------------------------------|--------------------------|
| | SOYA Porcentaje | GIRASOL Esteres metílicos | PESCADO Acidos grasos |
| 14:0 | 0.2 | 0.2 | 5.0 |
| 16:0 | 11.5 | 6.2 | 19.1 |
| 18:0 | 3.9 | 5.3 | 5.5 |
| 20:0 | 0.5 | 0.3 | 0.2 |
| Otros | 0.4 | 0.5 | 1.6 |
| SUM SAT | 16.5 | 12.5 | 31.4 |
| 16:1 | 0.1 | Tr | 4.8 |
| 18:1 | 20.1 | 15.2 | 21.1 |
| 20:1 | | | 2.8 |
| Otros | | | 0.3 |
| SUM MONO | 20.2 | 15.2 | 29.0 |
| 18:2 w 6 | 55.9 | 72.2 | 1.4 |
| 20:4 w 6 | | | 3.9 |
| 22: 4 w 6 | | | 1.3 |
| 22:5 w 6 | | | 0.8 |
| Otros | | | 4.4 |
| SUM w 6 | 55.9 | 72.2 | 11.5 |
| 18:3 w 3 | 7.4 | 0.1 | 0.9 |
| 20:5 w 3 | | | 7.8 |
| 22:5 w 3 | | | 2.5 |
| 22:6 w 3 | | | 16.3 |
| Otros | | | 0.6 |
| SUM w3 | 7.4 | 0.1 | 28.1 |
| Tr= Trazas | | | |

TABLA 2
COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

| INGREDIENTES g/kg dieta | D I E T A S | | |
|----------------------------|-------------|-----------|----------|
| | SOYA* | GIRASOL** | PESCADO° |
| Caseína (a) | 200 | 200 | 200 |
| DL Metionina | 1.6 | 1.6 | 1.6 |
| Celulosa | 20 | 20 | 20 |
| Almidón maíz | 478.4 | 478.4 | 478.4 |
| Chuíño | 150 | 150 | 150 |
| Aceite soya | 100 | 0 | 0 |
| Aceite girasol | 0 | 100 | 94.5 |
| Aceite pescado | 0 | 0 | 5.5 |
| Mezcla mineral (b) | 40 | 40 | 40 |
| Mezcla vitaminas (c) | 10 | 10 | 10 |
| Relación w6/w3 | 7.5 | 72.2 | 44.7 |

* *Glycina hispida*

** *Heliantus annus*

(a) Caseína delipidada

(b) Composición de las mezclas de minerales (g/kg mezcla)

(c) Composición de la mezcla de vitaminas liposolubles e hidrosolubles (g/300g mezcla).

(b y c en referencia 10).

Animales y diseño experimental

Sesenta ratas hembras, con deficiencia dietética generacional (3ra. generación) en ácido alfa linolénico (18:3w3), lograda según un diseño experimental previamente descrito (10); fueron cruzadas a los 60 días de edad con machos controles. Las ratas preñadas con deficiencia de omega 3, se dividieron en 4 grupos de 12 ratas cada uno. El grupo Girasol (G1), siguió alimentándose durante la preñez y la lactancia con la dieta deficiente en omega 3. El grupo 2 (G2) se realimentó, durante la lactancia con una dieta preparada con aceite de soya que proporcionaba el ácido graso omega 3 como AL. El grupo 3 se realimentó, durante la lactancia, con una dieta preparada con una mezcla de aceite de girasol y aceite de pescado purificado, que aportaba DHA preformado como fuente de omega 3. El grupo 4, estuvo constituido, por 12 ratas preñadas, controles con 60 días de edad, las que habían sido alimentadas durante 3 generaciones sucesivas, con una dieta que contenía aceite de soya como fuente de lípidos, este grupo siguió alimentándose durante la lactancia con la misma dieta balanceada la que proporcionaba amplias cantidades de omega 3 como AL.

Las ratas preñadas de los cuatro grupos fueron ubicadas en jaulas metálicas, individuales, y se mantuvieron a una temperatura ambiente de 25°C y con una humedad de 75% con 12 horas de luz y 12 de oscuridad. Las nodrizas, tuvieron libre acceso a la dieta asignada y agua de bebida.

A los 18 días de edad postnatal las crías machos de todos los grupos, fueron sacrificadas por decapitación para obtener sangre y cerebros. La sangre se recibió en una solución de la sal sódica del ácido etilendiaminotetracético (EDTA) al 5% a pH 7.0. El cerebro se liofilizó, inmediatamente de ser extraído para su posterior análisis.

Las crías hembras de los 4 grupos, con 18 días de edad postnatal fueron ayunadas, separándolas de sus madres por 8 horas, para luego reincorporarlas, a las jaulas de sus respectivas nodrizas, y ser amamantadas. Después de 15 minutos de amamantamiento se sacrificaron para obtener leche de sus estómagos. La leche fue liofilizada de inmediato, para ser analizada posteriormente.

Extracción de lípidos y análisis de su composición

Ácidos grasos de fosfolípidos de glóbulos rojos

La sangre con anticoagulante, recién obtenida, se centrifugó a 100 rpm, durante 10 minutos, para separar los glóbulos rojos; estos se lavaron 3 veces con una solución de NaCl al 9%. Se centrifugaron 3 veces, las dos primeras, a 1600 rpm por 10 minutos, la tercera centrifugación se realizó a 3200 rpm. Se extrajeron los lípidos de 0.4 ml de glóbulos rojos empacados por el método de Bligh y Dyer (13). Se separaron los fosfolípidos del resto de los lípidos por cromatografía en capa fina (14). La mancha correspondiente a los fosfolípidos se raspó y transfirió a un tubo con tapa de teflón, resuspendido en 1 ml de benceno

y metilado durante toda la noche con 2 ml de metanol en HCl 6N. Se usó, durante todo el proceso una cantidad conocida de dipentadecanoil fosfatidilcolina, como estándar interno. La mezcla se neutralizó con NaHCO₃ al 6% y se extrajo 2 veces, con 2 ml de n-hexano. Después de la evaporación del solvente, los ésteres metílicos de los ácidos grasos, fueron resuspendidos en cloroformo y una alícuota, se inyectó en el cromatógrafo gas-líquido (Carlo Erba GC 6000), equipado con una columna capilar de 50 metros de largo y 0.323 mm de diámetro (silica fixed BPX-70). Se usó helio como gas transportador, a una velocidad de 35 ml por segundo.

La elución se obtuvo con un programa, que comenzaba a 110° C durante 1 minuto, incrementando a 5° C cada minuto, hasta alcanzar los 230 °C. La temperatura del inyector y detector fue de 260 °C respectivamente. Para establecer los tiempos de retención de cada ácido graso, éstos se compararon con el cromatograma de una mezcla de ácidos grasos auténticos, realizado bajo las mismas condiciones de las muestras.

Ácidos grasos en lípidos de leche y cerebros

La humedad del material liofilizado se ajustó a un 80% con agua. Una vez reconstituida la humedad a la que tenía el tejido fresco, se extrajeron los lípidos y se analizó la composición de los ácidos grasos de los lípidos de la leche y fosfolípidos de cerebro por un procedimiento similar al empleado para el análisis de los lípidos de glóbulos rojos.

Estadística

Los resultados se presentan como promedios \pm desviación estándar. La diferencia entre el control y los grupos experimentales se analizó por el test «t» de Student. Las comparaciones de las relaciones, entre los tratamientos y el contenido de los diferentes ácidos grasos, se realizó por análisis de varianza una vía. Todos los análisis estadísticos, se realizaron en un computador Epson, usando el software Statistical Package for Social Sciences (SPSSx). Se consideró $p < 0.05$, como indicador de diferencia significativa.

RESULTADOS

Parámetros calculados

Con el propósito de relacionar los cambios, en la composición de los ácidos grasos, que afectan las propiedades físicas, de los fosfolípidos, y que contribuyen a la «fluidez», de la membrana; se calcularon los índices: punto de fusión promedio (PFP), y largo promedio de la cadena acilo (LCA). El cálculo del PFP, toma en cuenta a todos los ácidos grasos contenidos, en la mezcla de fosfolípidos, y es el resultado de la suma obtenida de los productos, después de multiplicar, la fracción molar de cada ácido graso, por su respectivo punto de fusión (15). El LCA, representa el promedio de la suma, de los resultados obtenidos, después de multiplicar, la fracción molar de cada ácido graso, en la mezcla de fosfolípidos, por el largo de su cadena (15).

El resultado calculado para el PFP, informa que el PFP del cerebro del grupo desnutrido, fue de 14.27 ± 1.58 °C, significativamente menor ($p < 0.05$), que el grupo control 22.20 ± 4.50 °C. Sólo el grupo, cuya madre consumió la dieta suplementada con aceite marino, mostró valores similares al control, 21.04 ± 2.97 °C; y diferentes del deficiente ($p < 0.05$), el suplementado con aceite de soya, mantuvo el valor del grupo deficiente, 14.57 ± 2.71 °C.

El resultado calculado, en relación al LCA, da cuenta que en el grupo deficiente, fue de 17.48 ± 0.36 °C, el del control 18.97 ± 0.58 °C; ($p < 0.05$), el grupo suplementado con aceite de soya fue de 16.95 ± 0.38 °C; similar al deficiente y el grupo suplementado con aceite marino, el resultado fue de 18.20 ± 1.23 °C; diferente de los grupos deficientes y soya ($p < 0.05$).

La Tabla 3, presenta los resultados de la composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos, de cerebros de ratas, con 18 días de edad, crías de nodrizas, deficientes en ácidos grasos omega 3, de controles y de madres alimentadas, durante la lactancia con dietas, suplementadas con aceite de soya o marino. Puede observarse que, la suma de los ácidos grasos saturados, fue similar en los grupos deficientes y suplementados, pero significativamente menor, que el contenido de el grupo control ($p < 0.05$). El nivel de AA, en los fosfolípidos de cerebro, fue similar en los cuatro grupos. El contenido del ácido docosapentaenoico (22:5w6), de la serie w6, en el grupo deficiente, se encontró significativamente aumentado ($p < 0.05$), con respecto al control, que no lo contenía, y a los grupos suplementados. El DHA, se encontró significativamente disminuido, en el grupo deficiente comparado, con los otros tres grupos ($p < 0.05$). La suma de los ácidos grasos poliinsaturados, fue similar en todos los grupos.

TABLA 3
COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS DE LOS FOSFOLIPIDOS DE CEREBROS DE RATAS CON 18 DIAS DE EDAD, CRIAS DE MADRES DEFICIENTES EN OMEGA 3 Y SUPLEMENTADAS DURANTE LA LACTANCIA CON ACEITE DE SOYA O MARINO

| Acidos Grasos | DEFICIENTE | CONTROL | SUPLEMENTADOS | | P |
|---------------|-------------------------------------|-------------|---------------|-------------|----------------|
| | Porcentaje de los esteres metílicos | | | | |
| | | | SOYA | MARINO | |
| 18:0 | 17.08±2.26 | 18.42±2.18 | 17.65±1.10 | 18.77±0.46 | NS |
| Σ0 | a45.62±2.53 | b57.11±4.38 | a49.81±3.19 | a41.09±1.68 | a vs b |
| 18:1w9 | 19.09±0.52 | 19.15±1.85 | 15.46±1.94 | 16.10±1.98 | NS |
| Σ1 | a22.65±0.75 | 19.53±1.94 | b18.13±2.73 | 19.79±1.71 | a vs b |
| 20:4w6 | 8.99±1.44 | 8.28±2.73 | 9.70±0.95 | 9.44±1.48 | NS |
| 22:4w6 | a4.19±0.46 | a3.42±0.84 | a3.86±0.32 | b1.53±0.37 | a vs b |
| 22:5w6 | a6.81±0.93 | c0.00±0.0 | b1.01±0.24 | b0.78±0.61 | a vs b |
| Σw6* | a23.18±1.61 | b12.13±2.83 | c30.35±1.87 | b13.42±2.15 | a vs b vs c |
| 22:6w3 | a1.86±0.72 | b8.14±1.23 | c4.60±0.49 | b6.59±1.37 | a vs b vs c |
| Σw3** | a4.66±1.02 | b9.18±0.88 | b13.45±2.20 | b10.42±2.93 | a vs b |
| Σw6+w3*** | 24.64±3.27 | 20.67±3.66 | 21.61±3.30 | 22.15±3.64 | NS |

Valores promedios ± desviación estándar de 8 diferentes cerebros por grupo.

P= Nivel de significancia < 0.05 intergrupo, calculado usando análisis de varianza ANOVA

* Suma de ácidos grasos omega 6

** Suma de ácidos grasos omega 3

*** Suma de ácidos grasos omega 6 + omega 3 altamente poliinsaturados (\Rightarrow 20 C)

La composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos de glóbulos rojos, de ratas con 18 días de edad, crías de nodrizas, deficientes en ácidos grasos omega 3, controles y deficientes realimentadas, con dietas suplementadas con aceite de soya o marino; se exhibe en la Tabla 4. Se puede advertir que, la suma de ácidos grasos saturados, fue similar en los grupos deficientes y control, pero significativamente mayor, que en los grupos suplementados ($p < 0.05$). Destaca el aumento del 22:5w6, en los glóbulos rojos del grupo deficiente, con respecto al control

($p < 0.05$), se observa además una disminución de este ácido graso, después de suplementar con aceite marino, pero no en el grupo suplementado con soya. El DHA, se encontró significativamente disminuído, en el grupo deficiente, con respecto a los grupos control, y suplementado con aceite marino ($p < 0.05$). La suma de los ácidos grasos poliinsaturados, y el AA, no se modificó por la deficiencia de omega 3, sin embargo los poliinsaturados aumentaron, durante la suplementación de las dietas con ambos aceites.

TABLA 4
COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS DE LOS FOSFOLIPIDOS DE ERITROCITO DE RATAS CON 18 DÍAS DE EDAD, CRIAS DE MADRES DEFICIENTES EN OMEGA 3 Y SUPLEMENTADAS DURANTE LA LACTANCIA CON ACEITE DE SOYA O MARINO

| Acidos Grasos | DEFICIENTE | CONTROL | SUPLEMENTADOS | | P |
|-------------------------------------|-------------|-------------|---------------|-------------|--------|
| | | | SOYA | MARINO | |
| Porcentaje de los esteres metílicos | | | | | |
| 18:0 | 15.89±3.14 | 13.32±3.23 | 12.05±0.05 | 12.83±2.94 | NS |
| Σ0 | a50.48±4.36 | a49.30±7.37 | b39.70±2.68 | a42.50±3.05 | a vs b |
| 18:1w9 | a5.76±0.81 | a6.04±1.38 | a5.03±0.11 | b4.38±0.17 | a vs b |
| Σ1 | a5.93±0.82 | a6.29±1.36 | a5.16±0.10 | b4.54±0.17 | a vs b |
| 20:4w6 | a16.17±3.09 | a16.43±3.23 | b20.92±1.10 | b22.72±0.99 | a vs b |
| 22:4w6 | a1.00±0.51 | a1.22±0.96 | b3.41±0.09 | b2.58±0.21 | a vs b |
| 22:5w6 | a3.12±0.25 | b0.69±0.14 | a3.12±0.02 | b1.94±0.18 | a vs b |
| Σw6* | 34.87±8.11 | 32.06±7.25 | 40.96±7.91 | 40.76±8.78 | NS |
| | | | | | vs c |
| 22:6w3 | a0.16±0.06 | b4.29±0.64 | c0.44±0.09 | b3.84±0.37 | a vs b |
| | | | | | vs c |
| Σw3** | a2.10±1.25 | b7.02±1.87 | c0.92±0.26 | b4.68±1.99 | a vs b |
| | | | | | vsc |
| Σw6+w3*** | a36.97±6.92 | a39.68±6.01 | b41.78±7.05 | b45.43±7.48 | a vs b |

Valores promedios ± desviación estándar de 8 muestras diferentes por grupo.

P= Nivel de significancia $p < 0.05$ intergrupos, calculado usando análisis de varianza ANOVA

* Suma de ácidos grasos omega 6

** Suma de ácidos grasos omega 3

*** Suma de ácidos grasos omega 6 + omega 3 altamente poliinsaturados (\Rightarrow 20 C).

El análisis de la composición de los ácidos grasos de los lípidos de leches de nodrizas deficientes en ácidos grasos omega 3, controles y realimentadas con dietas suplementadas con aceite de soya o marino se expone en Tabla 5. Se encontró que la suma de los ácidos grasos saturados está significativamente disminuída en el grupo deficiente con respecto al control y grupos suplementados ($p < 0.05$); los ácidos grasos monoinsaturados, no experimentaron cambios por la deficiencia de omega 3, pero aumentaron

significativamente en los grupos suplementados. La cantidad de AA, presente en las leches, fue comparable entre los grupos. El contenido de DHA, se encontró significativamente disminuído en los grupos, deficiente y suplementado con aceite de soya ($p < 0.05$), con respecto al control. La suma del contenido de ácidos grasos poliinsaturados, muestra la misma tendencia que, el contenido de omega 3.

TABLA 5
COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS DE LOS LIPIDOS DE LECHE DE RATAS NODRIZAS DEFICIENTES EN OMEGA 3 Y REALIMENTADAS CON DIETAS SUPLEMENTADAS CON ACEITE DE SOYA O MARINO

| Acidos Grasos | DEFICIENTE | | SUPLEMENTADOS | | P |
|------------------------|-------------------------------------|--------------|---------------|-------------|------------------------|
| | CONTROL | | SOYA | MARINO | |
| | Porcentaje de los esteres metilicos | | | | |
| $\Sigma 0^*$ | a439.83±2.01 | b45.96±4.54 | a43.77±0.55 | a40.67±1.25 | a vs b |
| $\Sigma 1^{**}$ | a15.33±0.72 | ab16.50±1.23 | b17.52±0.16 | c13.80±0.77 | a vs b vs c |
| 18:2w6 | a41.95±1.62 | b30.95±3.13 | b32.46±1.69 | a41.17±1.52 | a vs b |
| 20:4w6 | 1.36±0.33 | 1.20±0.40 | 1.00±0.03 | 1.15±0.30 | a vs b vs c |
| $\Sigma w6^{***}$ | a43.64±1.67 | b32.56±3.44 | b33.57±1.67 | a38.58±4.91 | a vs b |
| 18:3w3 | a0.55±0.12 | b3.69±0.44 | b3.93±0.25 | a0.24±0.10 | a vs b |
| 20:5w3 | a0.08±0.07 | b1.37±0.36 | c0.09±0.08 | c0.32±0.02 | a vs b vs c |
| 22:6w3 | a0.08±0.07 | b0.47±0.10 | a0.01±0.01 | c1.44±0.40 | a vs b |
| $\Sigma w3^{****}$ | a0.72±0.17 | b5.53±0.77 | c4.03±0.31 | d2.01±0.40 | a vs b vs c vs d |
| $\Sigma w6+w3^{*****}$ | a1.52±0.73 | b3.04±0.47 | a1.10±0.54 | b2.91±0.58 | a vs b |

Valores promedios ± desviación estándar de 8 muestras diferentes por grupo.

P= Nivel de significancia <0.05 calculado usando análisis de varianza ANOVA

* Suma de ácidos grasos saturados

** Suma de ácidos grasos monoinsaturados

*** Suma de ácidos grasos omega 6

**** Suma de ácidos grasos omega 3

***** Suma de ácidos grasos omega 6 + omega 3 altamente poliinsaturados (=> 20 C)

DISCUSION

El cerebro contiene una alta proporción de lípidos, los cuales están presentes exclusivamente como componentes estructurales de membranas celulares (16). La alta concentración de ácidos grasos altamente poliinsaturados, como el AA y DHA, característica en este órgano, tiende a disminuir dramáticamente, cuando los mamíferos son alimentados, con dietas deficientes en ácidos grasos esenciales L y AL. Se ha documentado que, la disminución de AA y DHA en el cerebro, se asocia con una menor capacidad cognitiva y función visual (17).

En trabajos anteriores, los autores de esta investigación, han provocado una disminución significativa del DHA, pero no del AA, en el cerebro de neonatos, alimentados por madres deficientes en ácidos grasos omega 3 (9).

Los resultados de este estudio demuestran que, la deficiencia experimental de DHA, en glóbulos rojos y cerebro de la proge de ratas, se recuperó, superando el contenido del

grupo control, cuando la dieta de la nodriza se suplementó con aceite marino, que proporcionó 114 mg de DHA preformado, por 100 gramos de dieta. La suplementación de la dieta materna con aceite de soya, que aportaba 700 g. de AL, por 100 gramos de dieta, no normalizó los bajos niveles de DHA, de las crías.

Sinclair (18), ha demostrado que el DHA preformado, se incorpora en el cerebro durante el desarrollo, a una velocidad 10 veces mayor, que el AL, que es el precursor del DHA. Las variaciones en el contenido de DHA, de la leche de ratas, se vio reflejado en la composición de los fosfolípidos del cerebro y glóbulos rojos de las crías lactantes.

Con el propósito de estudiar, los requerimientos nutricionales de ácidos grasos esenciales, particularmente de omega 3 en lactantes, se ha comparado la composición de los ácidos grasos de la leche humana y de las fórmulas lácteas, con la composición de los ácidos grasos del plasma y glóbulos rojos de los niños que las consumen, encontrándose una

relación directa en estas comparaciones (16, 18, 19, 20).

En este estudio, un suplemento de 114 mg. de DHA por 100 gramos de dieta, que era proporcionado por el aceite marino, triplicó el valor del contenido de DHA, observado en la leche del grupo control y aumentó 18 veces el de la leche del grupo deficiente. Este aumento, normalizó el contenido de DHA, en cerebro y glóbulos rojos de las crías. El suplemento de 700 mg de AL, por 100 gramos de dieta, no modificó los bajos niveles de DHA en leche ni glóbulos rojos, sólo aumentó el DHA en cerebro, en la mitad del valor control. Estos resultados, concuerdan con estudios recientes, practicados en cerdos, los cuales informan, que la dieta de la nodriza enriquecida con DHA, aumenta el contenido de este ácido graso, en el plasma, glóbulo rojo e hígado del cerdito lactante, no se observó este resultado cuando la dieta de la nodriza se suplementó con AL (16,21).

Queda demostrado en este estudio, la capacidad limitada de la cría lactante, para sintetizar DHA a partir de LA, dejando establecida la esencialidad nutricional de DHA preformado en esta etapa de la vida, la que deberá ser proporcionada por la leche materna o por las fórmulas lácteas, que deberán ser enriquecidas con DHA.

El aporte de 114 mg de DHA por 100 gramos de dieta no disminuyó el contenido de AA en el cerebro y eritrocitos de las crías, ni en la leche de las nodrizas, indicando que esta cantidad podría ser razonable como suplemento, para recuperar la deficiencia. Aportes mayores, han disminuído significativamente el contenido de AA, en el plasma, plaqueta y eritrocitos de ratas amamantadas por madres que recibieron en su dieta 20% de los lípidos como aceite marino (22).

Un hallazgo que necesita mayor estudio, es lo observado con la fluidez de membrana de cerebro. En este estudio, se observó que la deficiencia de omega 3 indujo una caída del punto de fusión (PF), de la mezcla de ácidos grasos en los fosfolípidos, en 7.9 °C, a expensas del aumento de los omega 6. Queda por explicar el efecto funcional, en el cerebro, de esta caída del PF, en el grupo deficiente y en el suplementado con soya.

REFERENCIAS

- Burr G.O., Burr M.M. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J. Biol. Chem.*, 82:345-367, 1929.
- Holman R.T. Biological activities of and requeriments for polyunsaturated acids. *Prog. Chem. Fats other Lipids.* 9:611-682, 1971.
- Tinoco J., Williams M.A., Hicenberges I., Lyman R.L. Evidence for nonessentiality of linolenic acid in the diet of the rat. *J. Nutr.* 1971; 101:937-946, 1971.
- Lands W.E.M. *Fish and Human Health* Orlando, Fla. Academic Press, Inc; 20-24, 1986.
- Tinoco J. Dietary requirements and functions of alphalinolenic acid in animal. *Prog. Lipid Res.* 21:1-45, 1982.
- Lamprey M.S., Walker B.L. A possible essential role for dietary linolenic acid in the development of young rat. *J. Nutr.* 1976; 106:86-93, 1976.
- Yamamoto N., Saitoh M., Moriuchi A., Nomura M., Okuyama H. Effect of dietary alpha-linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability. *J. Lipid Res.* 28:144-151. 1987.
- Neuringer M., Anderson G.J., Connor W.E. The essentiality of n3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Annu. Res. Nutr.* 517-541, 1988.
- Araya J.A., Cagalj A.K. Reducción del ácido docosahexaenoico (DHA) 22:6w3 durante el período de rápido desarrollo del cerebro de ratas. Efecto de la dieta materna deficiente en ácido linolénico y alta en ácido linoleico. *Rev. Chil. Nutr.* 20:20-27; 1992.
- Araya J.A. y Cagalj A.K. Exclusión del ácido alfa linolénico de la dieta de la rata durante varias generaciones. I Efecto en la reproducción y crecimiento post natal. *Arch. Latinoam. Nutr.* 43 Nº 2: 123-131. 1993.
- Strozzi L., Muñoz C., Reyes C. y Araya J. Estudio microscópico y ultraestructural de bulbo ocular de ratas privadas experimentalmente por tres generaciones sucesivas de ácido alfa linolénico (omega 3). Parte 1. *Arch. Chil. Oftal.* XLIX: 74-85, 1992.
- Connor W.E., Neuringer M., Lin D. The incorporation of docosahexaenoic acid into the brain of monkeys deficient in omega-3 essential fatty acids *Clin. Res.* 33:598, 1985.
- Bligh E.G. and Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J. Biochem Physiol.* 37: 911-917, 1979.
- Putnam J.C., Carlson S.E., De Voc P.W. and Barness L.A. The effect of variations in dietary fatty acids on the fatty acid composition of erythrocyte phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in human infantil. *Am J Clin Nutr.* 36:106-114, 1982.
- Stubbs C.D. and Smith A.D. The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. *Biochim. Biophys. Acta.* 779: 80-137. 1984.
- Sastry P.S. Lipid of nervous tissue composition and metabolism. *Prog. Lipid Res.* 24: 69-176, 1991.
- Sinclair A.J. Incorporation of radioactive polyunsaturated fatty acid into liver and brain of developing rat. *Lipids.* 10:175-184. 1975.
- Sanders T.A.B. and Reddy S. The influence of a vegetarian diet on the fatty acid composition of human milk and the essential fatty acid status of the infant. *J. Pediatr.* 120:S71-S77. 1992.
- Jensen R.G., Lammi-Keefe C.J., Hendersen R.A. Bush V.J. and Ferris A.M. Effect of dietary intake of n-6 and n-3 fatty acids on the fatty acid composition of human milk in North America. *J. Pediatr.* 120: S87-S92. 1992.
- Putnam J.C., Carlson S.E., Devoe P.W. and Barnes L.A. The effect of variations in dietary fatty acids on the fatty acids composition of erythrocyte phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in human infants. *Am J Clin Nutr.* 36: 106-114, 1982.
- Yeh Y.Y., Winters B.L. and Yeh S.M. Enrichment of (n-3) fatty acids of suckling rats by maternal dietary menhaden oil. *J Nutr.* 120:436-443. 1990.

Recibido: 10-12-1993

Aceptado: 18-07-1994