

Influencia de los ácidos grasos de la dieta en su distribución entre las lipoproteínas circulantes y en su asequibilidad al feto en la rata preñada

E. Amusquivar y E. Herrera

Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud. Universidad San Pablo-CEU. Boadilla del Monte. Madrid. España.

Fundamento y objetivo. El desarrollo fetal requiere un adecuado aporte de ácidos grasos esenciales y de sus derivados de cadena larga. El objetivo de este estudio ha sido determinar en la rata preñada cómo los ácidos grasos esenciales derivados de la dieta son transportados en el plasma materno y de qué forma influyen las variaciones en la composición de los de la dieta sobre el perfil de ácidos grasos en el plasma fetal.

Métodos. Desde el inicio de la gestación, las ratas fueron alimentadas con dietas semisintéticas e isocalóricas que contenían como único componente graso no vitamínico un 10% de grasa de palma, aceite de girasol, aceite de oliva o aceite de pescado. Los animales se estudiaron al día 20 de gestación y fueron alimentados *ad libitum* con la correspondiente dieta.

Resultados. Con los cuatro tipos de dietas, los ácidos grasos poliinsaturados se encontraban en plasma preferentemente esterificados y asociados a las distintas lipoproteínas circulantes, y en particular en los triglicéridos de las de densidad < 1,006 y en los fosfolípidos de lipoproteínas de alta densidad, en vez de en forma de ácidos grasos libres. Las diferencias entre los grupos en los ácidos grasos del plasma fetal se asemejan a los del plasma materno, incluida una reducción en la proporción de ácido araquidónico en las ratas alimentadas con la dieta de aceite de pescado con relación a los demás grupos. La proporción de

cada uno de los ácidos grasos poliinsaturados en plasma materno se correlacionó linealmente con los del feto, mientras que esto no ocurrió con los ácidos grasos saturados o con el ácido oleico.

Conclusión. En la rata gestante, los ácidos grasos poliinsaturados del plasma se transportan preferentemente en los triglicéridos de las lipoproteínas de densidad < 1,006, varían en función de los de la dieta, y determinan los que llegan al feto. A su vez, la dieta de aceite de pescado, rica en ácidos grasos de la serie ω -3, reduce la proporción de ácido araquidónico, lo cual puede tener consecuencias negativas en el desarrollo posnatal.

Palabras clave:

Ácidos grasos poliinsaturados. Dieta. Gestación. Lipoproteínas. Rata.

INFLUENCE OF DIETARY FATTY ACIDS ON THEIR DISTRIBUTION AMONG PLASMA LIPOPROTEINS AND THEIR AVAILABILITY TO THE FETUS IN PREGNANT RATS

Background. Fetal development requires the appropriate availability of essential fatty acids and of their long chain derivatives. The aim of present study was to determine in pregnant rats how essential fatty acids from the diet are transported in maternal plasma and the influence of changes in their composition in the diet on their availability to the fetus.

Methods. From the onset of pregnancy, rats were fed with semisynthetic and isocaloric diets containing 10% of either palm fat, sunflower oil, olive oil or fish oil as the only non-vitamin fat.

Correspondencia: Dr. E. Herrera.
Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud.
Universidad San Pablo-CEU. Ctra. Boadilla del Monte, Km 5,300.
28668 Boadilla del Monte. Madrid. España.
Correo electrónico: eherrera@ceu.es

Animals were studied on day 20 of pregnancy or of being fed the corresponding diet.

Results. Plasma polyunsaturated fatty acids were always found in their esterified form and associated to the different lipoproteins, mainly in triglycerides of $d < 1.006$ lipoproteins and in phospholipids of HDL rather than in the free fatty acids form. Intergroup differences in fetal plasma fatty acids were similar to those in their mothers, including a decline in the proportion of arachidonic acid in the fish oil group as compared to any of the other groups. The proportion of each of the polyunsaturated fatty acids in maternal plasma linearly correlated with that in the fetus, whereas this was not the case for either saturated fatty acids or oleic acid.

Conclusion. In pregnant rats, plasma polyunsaturated fatty acids are mainly transported in the form of triglycerides associated to $d < 1.006$ lipoproteins, they depend on those in the diet, and determine their availability to the fetus. Besides, fish oil diet, which is rich in ω -3 fatty acids, decreases the proportion of AA in the fetus, and this may have negative consequences in postnatal development.

Key words:

Polyunsaturated fatty acids. Diet. Pregnancy. Lipoproteins. Rat.

Introducción

Durante el último tercio de la gestación se produce una situación de hiperlipemia que consiste principalmente en un intenso incremento de los triglicéridos (TG), con incrementos más moderados en fosfolípidos (FL) y en colesterol, tanto en la mujer^{1,2} como en la rata^{3,4}. Esa hipertrigliceridemia de la gestante es inducida por diversos factores: incremento de la ingesta y de la absorción intestinal de TG⁵, incremento de la actividad lipolítica del tejido adiposo⁶, incremento de la producción hepática de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)⁷, reducción de la actividad de la lipoproteína lipasa en tejidos extrahepáticos⁸ e incremento de la transferencia de TG entre las distintas lipoproteínas circulantes, mediado por la aumentada actividad de la proteína transferidora de ésteres de colesterol⁹. La creciente llegada de lípidos de la dieta y el intenso trasiego de lípidos endógenos hacen que los niveles circulantes de ácidos grasos de la madre sean dependientes de los de la dieta¹⁰. Así pues, cambios en la composición de ácidos grasos en la dieta materna pueden afectar la disponibilidad de ácidos grasos esenciales en el feto.

El desarrollo normal del feto depende de un aporte adecuado de ácidos grasos esenciales y de sus derivados de cadena larga. En concreto, el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 [ω -3]) es necesario para la formación de los lípidos estructurales del sistema nervioso y para la función normal de la retina^{11,12}, y el ácido araquidónico (AA, 20:4 [ω -6]), además de formar parte estructural del sistema nervioso, es precursor de los eicosanoides más potentes¹³. A su vez, los niveles de este ácido graso se correlacionan con el crecimiento durante los primeros meses de vida¹⁴, y una deficiencia de éste durante la gestación y la lactancia puede producir un retraso en el desarrollo posnatal¹⁵. En consecuencia, los ácidos grasos esenciales, ácidos linoleico (18:2 [ω -6]) y α -linolénico (18:3 [ω -3]), procedentes de la dieta materna y sus derivados de cadena larga transportados en el plasma materno, deben llegar al feto a través de la placenta.

Los ácidos grasos libres (AGL) aumentan en plasma materno durante el último tercio de la gestación¹⁶, y se han considerado la principal fuente de ácidos grasos para el feto¹⁷. Sin embargo, recientemente se ha propuesto que los ácidos grasos asociados a las lipoproteínas circulantes de la madre ejercen también un importante papel en los ácidos grasos que atraviesan la placenta¹⁸. De hecho, se ha encontrado en plasma de mujeres gestantes que la mayor parte de los ácidos grasos poliinsaturados se encuentran en forma esterificada y asociados a lipoproteínas circulantes en vez de en forma de AGL¹⁸.

Por tanto, y a pesar de la falta de un paso directo de las lipoproteínas a través de la placenta¹⁹, los ácidos grasos esenciales procedentes de la dieta materna y sus derivados de cadena larga deben hacerse asequibles al feto. Con el fin de determinar la influencia de los ácidos grasos de la dieta durante la gestación sobre sus niveles en la circulación materna, su distribución en las distintas lipoproteínas y su relación con los del feto, en el presente estudio se alimentaron ratas con dietas que contenían distintos tipos de aceites como único componente graso no vitamínico, durante la gestación.

Materiales y métodos

Animales y dietas

Ratas hembras Sprague-Dawley de nuestro animalario se alimentaron inicialmente con una dieta estándar (B&K Universal, Barcelona, España) bajo condiciones de temperatura y luz controladas (22 ± 1 °C, 08.00-20.00). Cuando las ratas pesaron entre 180 y 200 g, se cruzaron con machos de su misma cepa, y el día en que aparecieron espermatozoides en el frotis vaginal se consideró día 0 de gestación. En ese momento se separaron las ratas preñadas de forma arbitraria en 4 grupos,

que se alimentaron *ad libitum* con dietas semisintéticas que contenían un 10% de grasa de palma, aceite de girasol, aceite de oliva o aceite de pescado. Las dietas eran isoenergéticas, se preparaban en el laboratorio al inicio del experimento y se almacenaban a -20°C hasta el momento de su utilización. La composición de las dietas se indica en la tabla 1. Tras 20 días de gestación y alimentación con la correspondiente dieta, las ratas fueron decapitadas recogiendo la sangre a 4°C en tubos que contenían 1 mg/ml de $\text{Na}_2\text{-EDTA}$. Se extrajeron los fetos, que fueron decapitados y su sangre se recogió rápidamente en tubos que contenían $\text{Na}_2\text{-EDTA}$. Se mezcló toda la sangre de los fetos procedentes de la misma madre y se procesó paralelamente a la de las madres.

Procesamiento de muestras

El plasma se separó por centrifugación a 1.500 g durante 20 min a 4°C . Para separar las distintas fracciones lipoproteicas del plasma materno se utilizaron alícuotas de 1 ml de plasma fresco, que se sometieron a ultracentrifugación diferencial en una ultracentrífuga Beckman TL-100 (Beckman Instruments España, Madrid, España) con rotor Beckman TLA 100.2. Las lipoproteínas de densidad $< 1,006$ (VLDL, aunque no puede descartarse la presencia de quilomicrones) se separaron mediante centrifugación a 224.000 g durante 3 h a una densidad de 1,006 kg/l. Las fracciones sucesivas se llevaron a la densidad correspondiente usando KBr sólido (densidad = 1,063 kg/l para las lipoproteínas de baja densidad [LDL] y densidad = 1,21 kg/l para las lipoproteínas de alta densidad [HDL]) y se centrifugaron a 224.000 g durante 3 h para separar las LDL y durante 6 h para obtener las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Los sobrenadantes se recogieron cortando la fracción superior de cada tubo y se diluyeron hasta 1 ml con agua destilada.

En las muestras de plasma y de cada una de las fracciones lipoproteicas se determinaron las concentraciones de TG y colesterol empleando un kit comercial de Menarini (Menarini Diagnostics, Florencia, Italia).

Análisis de ácidos grasos

Se determinó la composición en ácidos grasos del plasma tanto materno como fetal así como de las fracciones lipoproteicas previamente aisladas. En el caso del plasma materno y fetal, los lípidos totales se extrajeron del plasma siguiendo el método de Folch et al²⁰, y los ácidos grasos se saponificaron y metilaron simultáneamente siguiendo el método de Lepage^{21,22}. Los metilésteres de ácidos grasos se separaron y cuantificaron mediante un cromatógrafo de gases Perkin Elmer, Autosystem (Norwalk, CT) equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar Omegawax de 30 m de longitud y 0,25 mm de diámetro. Como fase móvil se utilizó nitrógeno. Los metilésteres de los ácidos grasos se identificaron por comparación de sus tiempos de retención con patrones purificados (Sigma, Saint Louis, MO). Para determinar la composición en ácidos grasos de las fracciones lipoproteicas se hizo una mezcla con todas las muestras del mismo grupo, extrayéndose posteriormente los lípidos²⁰. Se separaron los distintos lípidos de cada fracción lipoproteica por cromatografía en capa fina (Silicagel 60, F₂₅₄, Merck, Alemania) utilizando sucesivamente los siguientes sistemas de desarrollo: Cloroformo:Metanol:Ácido fórmico (1:2:1), n-Heptano:Diisopropiléter:Ácido acético (70:30:2) y n-Heptano²³. Las manchas correspondientes a cada lípido se detectaron mediante una solución de 2,7-diclorofluoresceína (0,1%) en etanol al 95% bajo luz ultravioleta²⁴, se separaron con una espátula y se saponificaron y metilaron para analizar los ácidos grasos siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

Tabla 1. Composición de las dietas utilizadas

Ingredientes	Dieta de palma	Dieta de girasol	Dieta de oliva	Dieta de pescado
	g/kg de dieta			
Caseína	170	170	170	170
Sales minerales ^a	35	35	35	35
Vitaminas ^b	10	10	10	10
Clorhidrato de colina	4	4	4	4
Celulosa	100	100	100	100
Almidón de maíz	580	580	580	580
Grasa de palma	100	—	—	—
Aceite de girasol	—	100	—	—
Aceite de oliva	—	—	100	—
Aceite de pescado	—	—	—	100

^aSales minerales (g/kg dieta): sulfato de cobre, 0,1; molibdato de amonio, 0,026; yodato de sodio, 0,0003; cromato potásico, 0,028; sulfato de cinc, 0,091; hidrógeno fosfato de calcio, 0,145; sal de Mohr, 2,338; sulfato magnésico, 3,37; sulfato de manganeso, 1,125; cloruro sódico, 4; carbonato cálcico, 9,89; dihidrógeno fosfato de potasio, 14,75.

^bVitaminas (mg/kg dieta): retinil palmitato, 2,4; colecalfierol, 0,025; menadiona bisulfato sódico, 0,8; biotina, 0,22; cianocobalamina, 0,01; riboflavina, 6,6; hidroclorehidrato de tiamina, 6,6; dl- α -tocopherol acetato, 100; ácido fólico, 5.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron utilizando el paquete informático SYSTAT. Para el cálculo de la significación estadística se llevó a cabo el análisis de la varianza ANOVA de una vía, utilizando el test de Tukey en los casos en los que la significación alcanzó valores de $p < 0,05$. Los coeficientes correspondientes a las correlaciones lineales se calcularon por el método de mínimos cuadrados²⁵.

Resultados

La ingesta de una dieta con un 10% de aceite de pescado durante la gestación provocó una disminución significativa de los TG plasmáticos en relación con el grupo de grasa de palma (tabla 2), mientras que los grupos de aceites de oliva y girasol presentaron una concentración de TG plasmáticos intermedia entre las de los grupos de palma y pescado. Al analizar el contenido en TG de las distintas lipoproteínas se pudo observar que la mayor parte de los TG plasmáticos se encontraban asociados a las VLDL (lipoproteínas de densidad $< 1,006$) (tabla 2). Asimismo, se produjo un descenso significativo de la concentración de TG-VLDL en las ratas alimentadas con la dieta de pescado frente a las alimentadas con dieta de palma. Los niveles de TG en LDL y HDL, sin embargo, no llegaron a ser significativamente diferentes entre las ratas de los distintos grupos (tabla 2).

Por otra parte, la composición en ácidos grasos de las dietas ingeridas por cada grupo se vio reflejada en la composición de ácidos grasos en el plasma de las ratas (tabla 3), aunque se produjeron algunas diferencias que cabe resaltar. Así, los ácidos

Tabla 2. Triglicéridos plasmáticos en las lipoproteínas de ratas preñadas alimentadas con la dieta de palma, girasol, oliva y pescado

	Triglicéridos (mg/dl)	TG-VLDL (mg/dl)	TG-LDL (mg/dl)	TG-HDL (mg/dl)
Palma	224,11 ± 13,44 ^a	167,09 ± 9,07 ^{ab}	17,63 ± 4,39 ^a	6,11 ± 1,26 ^a
Girasol	170,18 ± 16,55 ^{ab}	129,54 ± 11,74 ^{ac}	11,33 ± 0,94 ^a	3,83 ± 0,23 ^a
Oliva	214,11 ± 21,20 ^{ab}	202,21 ± 23,44 ^b	6,34 ± 1,69 ^a	3,60 ± 2,08 ^a
Pescado	137,42 ± 14,03 ^b	99,87 ± 17,64 ^c	10,47 ± 1,84 ^a	3,96 ± 1,25 ^a

Los valores se expresan como media ± error estándar. Para cada parámetro, las comparaciones estadísticas entre los grupos se indican con las letras en superíndice: letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los grupos.

grasos saturados predominantes en plasma fueron el palmítico (16:0) y el esteárico (18:0) en todos los grupos. Además, a pesar de que alrededor del 95% de los ácidos grasos de la dieta de palma eran saturados (tabla 4), los cuatro grupos estudiados presentaron una proporción similar de ácidos grasos saturados en el plasma materno (tabla 3). En cuanto al ácido oleico (18:1 [ω-9]), que es el principal ácido graso monoinsaturado, a pesar de que en la dieta de oliva se encontraba en una proporción mucho mayor que en el resto de las dietas, en el plasma materno alcanzó una proporción similar en los grupos de oliva y de palma, que fue a su vez mayor que la que presentó el grupo de girasol (tabla 3). Por otra parte, y de forma similar a su proporción en las dietas, el ácido linoleico (18:2 [ω-6]) alcanzó la mayor proporción en el plasma del grupo alimentado con la dieta de girasol. Sin embargo, el AA (20:4 [ω-6]), a pesar de no representar una proporción importante en ninguna de las dietas (tabla 4), alcanzó un valor similar en todos los grupos excepto en el grupo de pescado, donde la proporción fue menor (tabla 3). Precisamente el grupo de pescado fue el que presentó la mayor proporción de ácidos eicosapentaenoico (EPA, 20:5 [ω-3]) y DHA (22:6 [ω-3]) (tabla 3).

Para determinar en qué fracción lipoproteica se transportaban de forma preferente los ácidos grasos poliinsaturados en el plasma de la rata preñada se determinó su composición en los distintos lípidos de las lipoproteínas aisladas del plasma y en los AGL circulantes. Como se muestra en la figura 1, los ácidos grasos poliinsaturados estaban principalmente esterificados, en forma de TG, FL o ésteres de colesterol y asociados a las distintas lipoproteínas circulantes en vez de en forma de AGL. A su vez, en todos los grupos, las fracciones lipoproteicas que presentaron una mayor concentración de ácidos grasos poliinsaturados fueron los TG de las lipoproteínas de densidad $< 1,006$ (VLDL) y los FL de las HDL (fig. 1). Por otra parte, en el caso de las ratas alimentadas con la dieta de girasol se observó un aumento en los ácidos grasos poliinsaturados de la serie ω-6 en la fracción correspondiente a los TG de las lipoproteínas de densidad $< 1,006$. De la misma forma, el grupo de pescado presentó una proporción elevada de ácidos grasos poliinsaturados de la serie ω-3 en los TG de las lipoproteínas de densidad $< 1,006$ (fig. 1).

Como se muestra en la tabla 5, la composición en ácidos grasos en el plasma fetal se asemeja a la del plasma materno, con alguna excepción, como

Tabla 3. Composición en ácidos grasos del plasma materno en ratas preñadas alimentadas con la dieta de palma, girasol, oliva o pescado

Ácidos grasos	Palma	Girasol	Oliva	Pescado
12:0	1,16 ± 0,13 ^a	0,24 ± 0,14 ^a	0,28 ± 0,13 ^a	0,29 ± 0,08 ^a
14:0	2,70 ± 0,29 ^a	0,88 ± 0,06 ^{ab}	0,79 ± 0,17 ^b	1,29 ± 0,40 ^{ab}
16:0	21,11 ± 0,94 ^a	17,26 ± 2,75 ^a	19,15 ± 1,89 ^a	17,56 ± 1,36 ^a
18:0	14,58 ± 1,07 ^a	12,77 ± 1,62 ^a	10,43 ± 1,38 ^a	11,37 ± 0,36 ^a
18:1 (ω-9)	28,69 ± 0,39 ^a	18,21 ± 1,88 ^b	33,66 ± 6,05 ^a	19,96 ± 0,79 ^{ab}
18:2 (ω-6)	10,81 ± 1,24 ^a	20,92 ± 2,58 ^b	8,49 ± 1,76 ^a	12,69 ± 0,48 ^a
18:3 (ω-3)	1,28 ± 1,28	0,11 ± 0,11	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
20:4 (ω-6)	4,94 ± 1,01 ^{ab}	16,37 ± 5,75 ^a	9,41 ± 2,32 ^{ab}	2,30 ± 0,40 ^b
20:5 (ω-3)	1,56 ± 1,09 ^a	0,43 ± 0,27 ^a	0,74 ± 0,59 ^a	4,98 ± 0,76 ^b
22:6 (ω-3)	1,29 ± 0,28 ^a	0,21 ± 0,14 ^a	1,30 ± 0,11 ^a	7,11 ± 1,41 ^b

Los valores se expresan como media ± error estándar, en g/100 g de ácidos grasos. Para cada ácido graso, las comparaciones estadísticas entre los grupos se indican con las letras en superíndice: letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los grupos.

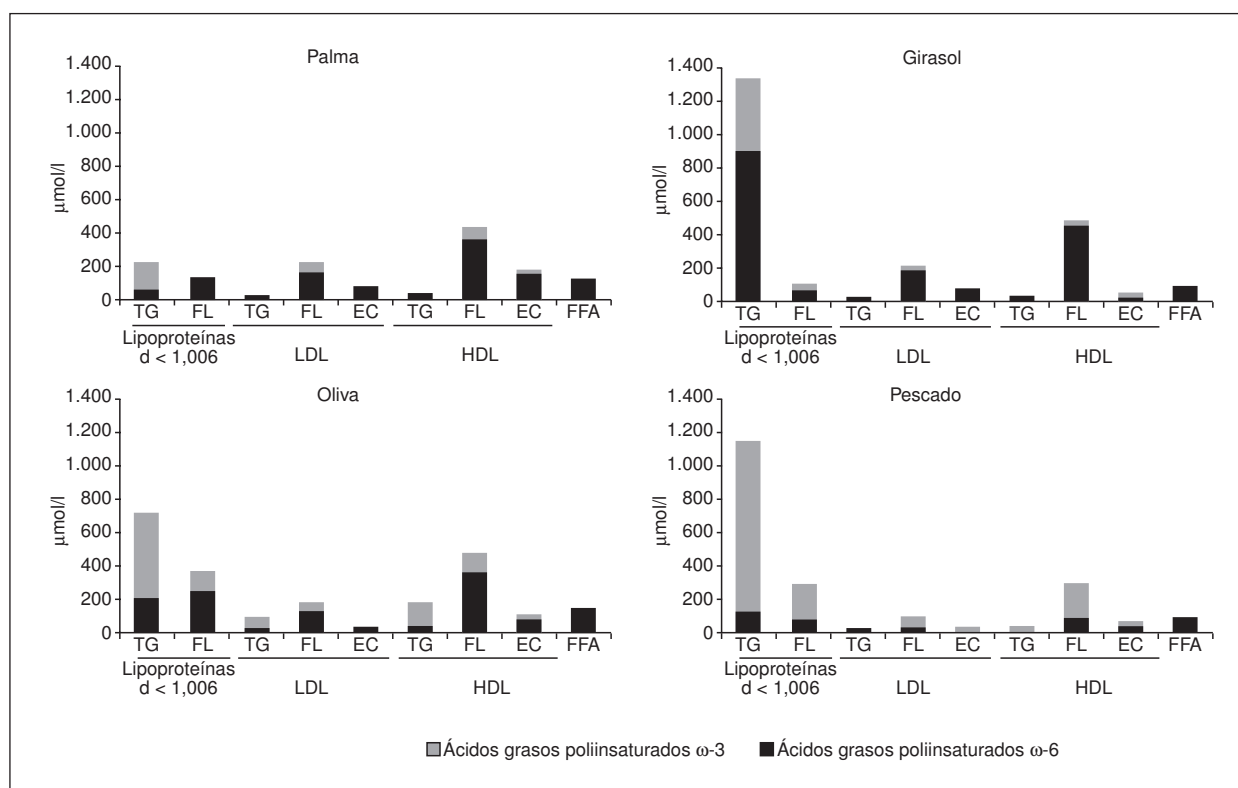


Figura 1. Concentración de ácidos grasos poliinsaturados en las fracciones lipídicas de las lipoproteínas y en los ácidos grasos libres (FFA) del plasma de ratas preñadas alimentadas con distintas dietas a día 20 de gestación. TG: triglicéridos; FL: fosfolípidos; EC: ésteres de colesterol.

la presencia de una mayor proporción de ácido palmítico en el grupo de pescado frente al resto de los grupos. Cabe destacar la proporción extremadamente baja de AA en el plasma fetal del grupo de pescado, mientras que es este el grupo que presentó los valores más elevados de EPA y DHA (tabla 5).

La similitud en la composición de ácidos grasos en el plasma materno y fetal nos llevó a estudiar la posible correlación lineal entre la proporción de cada ácido graso en el plasma materno y fetal. Como se muestra en la tabla 6, encontramos correlaciones estadísticamente significativas al relacionar la proporción de cada uno de los ácidos grasos poliinsaturados: linoleico, AA, EPA y DHA en el plasma materno con su proporción correspondiente en el plasma fetal, mientras que las correlaciones entre plasma materno y fetal para la suma de los ácidos saturados o el ácido oleico no llegan a ser significativas.

Discusión

En el presente estudio administramos a ratas gestantes dietas semisintéticas que poseen un perfil de ácidos grasos diferente entre sí y una proporción

moderada de grasa, próxima a la contenida en las dietas administradas normalmente a ratas adultas.

La menor concentración de TG totales en plasma encontrada en el grupo de pescado en comparación con el grupo de palma concuerda con el efecto hipotrigliceridemiante descrito para los ácidos grasos poliinsaturados de la serie ω -3^{26,27}. Esta disminución observada en las ratas alimentadas

Tabla 4. Composición en ácidos grasos de las dietas

Ácidos grasos	g/100 g de ácidos grasos			
	Dieta de palma	Dieta de girasol	Dieta de oliva	Dieta de pescado
12:0	40,68	0,28	0,31	0,01
14:0	15,13	0,29	0,33	4,11
16:0	16,79	7,08	10,87	20,66
18:0	22,43	4,87	3,59	3,48
18:1 (ω -9)	4,97	23,63	74,83	23,33
18:2 (ω -6)	0,01	62,13	7,39	0,01
18:3 (ω -3)	0,01	0,13	0,59	0,01
20:4 (ω -6)	0,01	0,01	0,01	0,01
20:5 (ω -3)	0,01	0,01	0,04	9,54
22:6 (ω -3)	0,01	0,01	0,01	11,44

Tabla 5. Composición de ácidos grasos en el plasma fetal de ratas alimentadas con la dieta de palma, girasol, oliva o pescado

Ácidos grasos	g/100 g de ácidos grasos			
	Palma	Girasol	Oliva	Pescado
12:0	0,72 ± 0,16 ^a	0,90 ± 0,10 ^a	0,82 ± 0,11 ^a	1,03 ± 0,29 ^a
14:0	3,59 ± 0,63 ^a	1,43 ± 0,12 ^b	1,83 ± 0,23 ^b	2,19 ± 0,10 ^b
16:0	29,50 ± 3,34 ^a	27,13 ± 1,36 ^a	31,65 ± 3,93 ^a	44,27 ± 1,04 ^b
18:0	11,80 ± 0,58 ^a	12,64 ± 0,94 ^a	12,14 ± 1,30 ^a	16,35 ± 1,90 ^a
18:1 (ω-9)	28,45 ± 2,99 ^a	19,58 ± 2,31 ^b	25,79 ± 3,39 ^a	19,74 ± 1,19 ^b
18:2 (ω-6)	4,10 ± 0,72 ^a	11,59 ± 1,86 ^b	4,49 ± 0,83 ^a	3,61 ± 0,34 ^a
18:3 (ω-3)	0,56 ± 0,19	0,01 ± 0,00	0,23 ± 0,23	0,25 ± 0,25
20:4 (ω-6)	7,51 ± 2,87 ^a	16,55 ± 4,62 ^b	11,08 ± 3,79 ^{ab}	0,84 ± 0,84 ^c
20:5 (ω-3)	0,69 ± 0,69 ^a	0,39 ± 0,33 ^a	0,74 ± 0,74 ^a	2,23 ± 0,62 ^b
22:6 (ω-3)	1,66 ± 0,67 ^a	0,53 ± 0,27 ^a	1,37 ± 0,79 ^a	2,77 ± 0,38 ^b

Los valores se expresan como media ± error estándar. Para cada ácido graso, las comparaciones estadísticas entre los grupos se indican con las letras en superíndice: letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los grupos.

con dieta de pescado ocurre también en las VLDL, al igual que en trabajos anteriores^{28,29}, habiendo sido atribuido dicho efecto a una disminución en la síntesis hepática de VLDL³⁰.

Por otra parte, las diferencias en la composición en ácidos grasos de las dietas ingeridas modificaron en cierto modo la composición en ácidos grasos del plasma materno, excepto en el caso de los ácidos grasos saturados, los cuales se sintetizan endógenamente³¹, y probablemente por ello presentan una proporción similar en todos los grupos. Por otra parte, la presencia de una proporción elevada y similar de ácido oleico en las ratas alimentadas con dieta de oliva y las del grupo de palma podría deberse a la acción de la desaturasa Δ -9³² sobre el ácido esteárico (presente en gran proporción en la dieta de palma) convirtiéndolo en ácido oleico. A su vez, la alta proporción de ácido linoleico en la dieta de girasol provocó una elevada proporción de ácido linoleico en plasma del grupo alimentado con dicha dieta. Sin embargo, el AA, que es sintetizado endógenamente a partir de ácido linoleico³², alcanzó una proporción importante en todos los grupos a pesar de su baja proporción en las dietas. Por

otro lado, el grupo de dieta de pescado, que fue el que presentó una mayor proporción de ácidos grasos ω-3 en el plasma debido a la elevada presencia de dichos ácidos grasos en esta dieta, alcanzó la menor proporción de AA. Este efecto podría deberse a la conocida disminución de la actividad de la desaturasa Δ -6 en la síntesis de AA, que se produce en presencia de grandes cantidades de ácidos grasos ω-3^{33,34}.

En el presente trabajo se encontró que la composición en ácidos grasos en el plasma materno se correlacionó con la composición en ácidos grasos del plasma fetal, excepto en el caso de los ácidos grasos saturados y en el ácido oleico. En el caso de los ácidos grasos saturados es muy posible que la conocida capacidad lipogénica, descrita en el hígado fetal³⁵, sea responsable de esa falta de correlación entre los de la madre y el feto. A su vez, la falta de correlación entre la proporción de ácido oleico en la madre y el feto podría ser debida a la capacidad que posee el feto para sintetizarlo a partir de ácido esteárico, gracias a la presencia de actividad desaturasa Δ -9 en éste³². Por otra parte, las correlaciones lineales encontradas en el caso de los ácidos grasos poliinsaturados entre el plasma materno y fetal indican una relación directa entre la proporción de cada uno de los ácidos grasos poliinsaturados en la madre y el feto. Cabe comentar la importante deficiencia de AA observada en el plasma de los fetos procedentes de madres alimentadas con la dieta de pescado, debido a su vez a la baja proporción de este ácido graso en el plasma materno. Este ácido graso juega un papel importante en el crecimiento durante la etapa perinatal y posnatal tanto en el hombre¹⁴ como en la rata¹⁵, y mediante experimentos de suplementación con AA o con su precursor, el ácido γ-linolé-

Tabla 6. Correlaciones de la proporción de cada ácido graso en la madre y el feto

Ácido graso	Plasma materno frente a plasma fetal		
	N	r	p
Saturados	34	0,26	NS
18:1 (ω-9)	34	0,15	NS
18:2 (ω-6)	33	0,55	< 0,001
20:4 (ω-6)	31	0,46	< 0,05
20:5 (ω-3)	32	0,58	< 0,001
22:6 (ω-3)	33	0,67	< 0,001

nico (18:3 [ω -3]), sabemos que precisamente esa deficiencia de AA en las crías de madres alimentadas con dieta conteniendo aceite de pescado como la utilizada en el presente estudio, es responsable del importante retraso en el desarrollo posnatal que se observa en éstas.

El análisis de la composición en ácidos grasos de las lipoproteínas circulantes en el plasma materno muestra que la mayor parte de los ácidos grasos poliinsaturados se transportan en plasma asociados a lipoproteínas de densidad < 1,006. Por tanto, la oferta de ácidos grasos esenciales y sus derivados de la madre al feto se realiza principalmente en forma de TG asociados a VLDL y quilomicrones, y en menor medida en forma de FL asociados a HDL. Se sabe que la placenta presenta actividad lipoproteína lipasa³⁶, así como receptores de lipoproteínas, incluidos de VLDL³⁷, y distintas lipasas intracelulares³⁸. Mediante la captación de lipoproteínas por sus correspondientes receptores y la participación de las lipasas intracelulares, los TG transportados por el plasma materno pueden ser captados e hidrolizados por la placenta, donde tras reesterificación e hidrólisis intracelular son liberados finalmente los ácidos grasos al plasma fetal. Por otra parte, se conoce la existencia en la placenta de proteínas fijadoras y transportadoras de ácidos grasos^{39,40,41}, que fijan preferentemente ácidos grasos poliinsaturados^{40,41}, con lo que se asegura el aporte de éstos al feto.

Así pues, el presente estudio muestra que los ácidos grasos poliinsaturados en el plasma fetal se encuentran influidos por los del plasma materno, y que dichos ácidos grasos en el plasma materno varían en función de la dieta y se transportan en sangre principalmente en forma de TG asociados a lipoproteínas de densidad < 1,006. A su vez, nuestros resultados ponen de manifiesto que un exceso en los ácidos DHA y EPA, como el que se produce en la dieta rica en pescado, reduce la concentración de AA, posiblemente como consecuencia de una inhibición en su síntesis. Ello produce una importante reducción de este ácido graso en el feto, lo cual, como se ha revisado recientemente⁴², puede influir negativamente en su desarrollo posnatal.

Agradecimiento

El presente trabajo se ha realizado gracias a las ayudas del Fondo de Investigación Sanitaria, Instituto de Salud Carlos III (99/0205), Universidad San Pablo-CEU (19/99-00) y la Dirección General de Investigación de la Comunidad de Madrid (0023/00).

Bibliografía

1. Montelongo A, Lasunción MA, Pallardó LF, Herrera E. Longitudinal study of plasma lipoproteins and hormones during pregnancy in normal and diabetic women. *Diabetes* 1992;41:1651-9.
2. Knopp RH, Bonet B, Lasunción MA, Montelongo A, Herrera E. Lipoprotein metabolism in pregnancy. En: Herrera E, Knopp RH, eds. *Perinatal Biochemistry*. Boca Ratón: CRC Press, 1992;19-51.
3. Ramírez I, Llobera M, Herrera E. Circulating triacylglycerols, lipoproteins, and tissue lipoprotein lipase activities in rat mothers and offspring during the perinatal period: effect of postmaturity. *Metabolism* 1983;32:333-41.
4. Argilés J, Herrera E. Lipids and lipoproteins in maternal and fetus plasma in the rat. *Biol Neonate* 1981;39:37-44.
5. Argilés J, Herrera E. Appearance of circulating and tissue ¹⁴C-lipids after oral ¹⁴C-tripalmitate administration in the late pregnant rat. *Metabolism* 1989;32:333-41.
6. Martín-Hidalgo A, Holm C, Belfrage P, Schotz MC, Herrera E. Lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase activity and mRNA in adipose tissue during pregnancy. *Am J Physiol* 1994;266:E930-5.
7. Wasfi I, Weinstein I, Heimberg M. Increased formation of triglycerides from oleate in perfused livers from pregnant rats. *Endocrinology* 1980;107:584-96.
8. Alvarez JJ, Montelongo A, Iglesias A, Lasunción MA, Herrera E. Longitudinal study on lipoprotein profile, high density lipoprotein subclases, and postheparin lipases during gestation in women. *J Lipid Res* 1996;37:299-308.
9. Iglesias A, Montelongo A, Herrera E, Lasunción MA. Changes in cholesteryl ester transfer protein activity during normal gestation and postpartum. *Clin Biochem* 1994;27:63-8.
10. Buisson A, Lu H, Guo F, Jen KL. High-fat feeding of different fats during pregnancy and lactation in rats: effects on maternal metabolism, pregnancy outcome, milk and tissue fatty acid profiles. *Nutr Res* 1997;17:1541-54.
11. Clandinin MT, Chapell JE, Leong S, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acids requirements. *Early Hum Dev* 1980;120:121-30.
12. Neuringer M, Connor WE, vanPetten C, Barstad L. Dietary omega-3 fatty acid deficiency and visual loss in infants rhesus monkeys. *J Clin Invest* 1984;73:272-6.
13. Li B, Birdwell C, Whelan JW. Antithetic relationship of dietary arachidonic acid and eicosapentaenoic acid on eicosanoid production in vivo. *J Lipid Res* 1994;35:1869-77.
14. Carlson SE, Werkman SH, Peeples JM, Cooke RJ, Tolley EA. Arachidonic acid status correlates with first-year growth in preterm infants. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90:1073-7.
15. Amusquivar E, Ruperez FJ, Barbas C, Herrera E. Low arachidonic acid rather than α -tocopherol is responsible for the delayed postnatal development in offspring of rats fed fish oil instead of olive oil during pregnancy and lactation. *J Nutr* 2000;130:2855-65.
16. Benassayag C, Mignot TM, Haourigui M, Civel C, Hassid J, Carbonne B, et al. High polyunsaturated fatty acid, thromboxane A₂, and alpha-fetoprotein concentrations at the human feto-maternal interface. *J Lipid Res* 1997;38:276-86.
17. Innis SM. Essential fatty acids in growth and development. *Prog Lipid Res* 1991;30:39-103.
18. Herrera E. Implications of dietary fatty acids during pregnancy on placental, fetal and postnatal development. *Placenta* 2002;Supl A: S9-19.
19. Herrera E, Bonet B, Lasunción MA. Maternal-fetal transfer of lipid metabolites. En: Polin RA, Fox WW, eds. *Fetal and neonatal physiology*. Philadelphia: WB Saunders, 1998;447-58.
20. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957;226:497-509.
21. Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in one-step reaction. *J Lipid Res* 1986;27:114-20.
22. Lepage G, Roy CC. Improved recovery of fatty acids through direct transesterification without prior extraction of purification. *J Lipid Res* 1984;25:1391-6.
23. Ruiz JI, Ochoa B. Quantification in the subnanomolar range of phospholipids and neutral lipids by monodimensional thin-layer chromatography and image analysis. *J Lipid Res* 1997;38:1482-9.

24. Christie WW. Silver ion chromatography using solid-phase extraction columns packed with a bonded-sulfonic acid phase. *J Lipid Res* 1989;30:1471-3.
25. Quaresima V, Pizzi A, De Blasi RA, Ferrari A, Ferrari M. Influence of the treadmill speed/slope on quadriceps oxygenation during dynamic exercise. *Adv Exp Med Biol* 1996;388:231-5.
26. Haglund O, Luostarinen R, Wallin R, Wibell L, Saldeen T. The effects of fish oil on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in humans supplemented with vitamin E. *J Nutr* 1991;121:165-9.
27. Pownall HJ, Brauchi D, Kilinc C, Osmundsen K, Pao Q, Payton-Ross, et al. Correlation of serum triglyceride and its reduction by ω -3 fatty acids with lipid transfer activity and the neutral lipid compositions of high-density and low-density lipoproteins. *Atherosclerosis* 1999;143:285-97.
28. Harris WS, Connor WE, Illingworth DR, Rothrock DW, Foster DM. Effects of fish oil on VLDL triglyceride kinetics in humans. *J Lipid Res* 1990;31:1549-58.
29. Ney DM, Lasekan JB, Kim J. Relative effects of dietary oleic- and linoleic-rich oils on plasma lipoprotein composition in rats. *J Nutr* 1989;119:857-63.
30. Price PT, Nelson CM, Clarke SD. Omega-3 polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:3-7.
31. Zorzano A, Soley M, Herrera E. Rapid effects of insulin and glucose on the hepatic incorporation of gluconeogenic substrates into glyceride glycerol and glycogen. *Int J Biochem* 1989;21:1071-5.
32. Cook HW. Fatty acid desaturation and chain elongation in eucaryotes. En: Vance DE, Vance J, eds. *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Elsevier Science Publishers, 1991; 141-169.
33. Christiansen EN, Lund JS, Rørveit T, Rustan AC. Effect of dietary n-3 and n-6 fatty acids on fatty acid desaturation in rat liver. *Biochim Biophys Acta* 1991;1082:57-62.
34. Raz A, Kamin-Belsky N, Przedecki F, Obukowicz MG. Dietary fish oil inhibits delta-6 desaturase activity in vivo. *J Am Oil Chem Soc* 1998;75:241-5.
35. Lorenzo M, Caldes T, Benito M, Medina JM. Lipogenesis in vivo in maternal and foetal tissues during late gestation in the rat. *Biochem J* 1981;198:425-8.
36. Bonet B, Brunzell JD, Gown AM, Knopp RH. Metabolism of Very-Low-Density lipoprotein triglyceride by human placental cells: The role of lipoprotein lipase. *Metabolism* 1992;41:565-603.
37. Cummings SW, Hatley W, Simpson ER, Ohashi M. The binding of high and low density lipoproteins to human placental membrane fractions. *J Clin Endocrinol Metab* 1982;54:903-8.
38. Kaminsky S, D'Souza SW, Massey RF, Smart JL, Sibley CP. Effects of maternal undernutrition and uterine artery ligation on placental lipase activities in the rat. *Biol Neonate* 1991;60:201-6.
39. Campbell FM, Gordon MJ, Dutta-Roy AK. Plasma membrane fatty acid-binding protein from human placenta: Identification and characterization. *Biochem Biophys Res Commu* 1995;209:1011-7.
40. Dutta-Roy AK. Transport mechanisms for long-chain polyunsaturated fatty acids in the human placenta. *Am J Clin Nutr* 2000;71:315S-22S.
41. Campbell FM, Gordon MJ, Dutta-Roy AK. Placental membrane fatty acid-binding protein preferentially binds arachidonic and docosahexaenoic acids. *Life Sciences* 1998;63:235-40.
42. Herrera E. Lipid metabolism in pregnancy and its consequences in the fetus and newborn. *Endocrine* 2002;19:43-55.