

**“EFECTO DE UNA BAJA INGESTA DE ÁCIDO  $\alpha$ -LINOLÉNICO Y/O DIETA  
ALTA EN GRASA EN EL EMBARAZO Y LACTANCIA, SOBRE LA  
COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN TEJIDOS MATERNOS Y DE LA CRÍA  
HASTA LA PRE-PUBERTAD EN RATAS”**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN NUTRICIÓN Y ALIMENTOS  
MENCIÓN NUTRICIÓN HUMANA

Tesista: María Paz Beyer Díaz.

Director de Tesis: MSc. Ph.D. Rodrigo Valenzuela Báez.

Co-Director de Tesis: Ph.D. Alexies Dagnino Subiabre.

Fuente de financiamiento FONDECYT n° 1221098

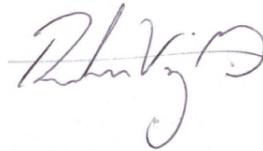
---

Septiembre 2024

Santiago-Chile

## AUTORIZACIÓN

El siguiente documento presentado como Proyecto de Tesis por la Estudiante María Paz Beyer Díaz ha sido revisado y aprobado por nosotros como Directores de Tesis para la presentación formal ante la Comisión Evaluadora que designará el Comité Académico del Magíster en Nutrición y Alimentos.



---

**Prof. Rodrigo Valenzuela Báez.**



---

**Prof. Alexies Dagnino Subiabre.**

Santiago de Chile, 23 de septiembre de 2024

## **1. CUERPO PRELIMINAR**

### **i. Comisión de tesis**

Miguel Llanos Silva, PhD, Profesor Asociado; Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos Dr. Fernando Mönckeberg Barros (INTA), Universidad de Chile.

Miguel Ángel Rincón Cervera, PhD, Profesor Asociado; Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos Dr. Fernando Mönckeberg Barros (INTA), Universidad de Chile.

Lisette Duarte Silva, PhD, Profesor Asistente; Departamento de Nutrición, Universidad de Chile.

**ii. Dedicatoria**

Para todo aquel que cree en la belleza de sus sueños  
y tiene la perseverancia para hacerlos realidad

### **iii. Agradecimientos**

A Dios, porque sus tiempos son perfectos, nunca temprano, nunca tarde. Por siempre ponerme en los lugares adecuados, por entregarme salud y un gran hogar.

A mis papás, Graciela y Patricio, a quienes les debo todo. Les agradezco su apoyo en los días buenos y más aún, en los malos. Por su amor incondicional, por siempre apoyarme en todos los caminos que decido emprender, por sus consejos, por regalarme una vida linda y por hacerme la persona que soy hoy.

A mi compañero de vida Orlando, por ser el mejor partner, por comprenderme y apoyarme desde el día uno de este proceso, por su amor y sus eternas palabras de aliento. Sin ti, este proceso habría sido muy difícil. Gracias por quererme tan bonito y hacer que la vida sea emocionante a tu lado.

Al Profesor Rodrigo, gracias por su apoyo, por enseñarme a trabajar con cariño y dedicación y por motivarme a siempre ir más allá. A mis compañeros de laboratorio por siempre sacarme una sonrisa y por entregarme su conocimiento de manera desinteresada. Y a todos los alumnos de pregrado, profesores y personal que me ayudó a desarrollar esta tesis, gracias por hacer este proceso tan agradable, y hacer mi paso por el laboratorio, una hermosa y provechosa experiencia.

También me gustaría agradecer a mi querido perrito Gaspar, mi fiel compañero durante los días y noches de estudio. Lamentablemente, me dejó antes de terminar este proceso, pero sé que siempre está conmigo. Su presencia hizo que me sintiera acompañada en todo momento y que el trabajo se hiciera mucho más agradable.

Y finalmente, me gustaría agradecerme a mí, a esa pequeña María Paz que siempre ha soñado en grande, por su perseverancia y tenacidad para alcanzar todos sus objetivos, por nunca rendirse en los días difíciles y por ilusionarse y disfrutar de cada camino nuevo que se presenta.

#### iv. Índice de contenidos

Contenido	N° de página
1. CUERPO PRELIMINAR.....	3
i. Comisión de tesis.....	3
ii. Dedicatoria.....	4
iii. Agradecimientos.....	5
iv. Índice de contenidos.....	6
v. Índice de tablas.....	9
vi. Índice de figuras.....	10
vii. Índice de anexos.....	11
viii. Lista de abreviaturas.....	12
2. RESUMEN.....	13
3. ABSTRACT.....	14
4. INTRODUCCIÓN.....	15
4.1. Relevancia de los ácidos grasos para el organismo.....	15
4.2. Importancia de los AGPI.....	15
4.3. Esencialidad e importancia del ALA.....	16
4.4. ALA como precursor de los AGPI n-3.....	16
4.5. Síntesis de AGPI.....	17
4.6. Impacto de los nutrientes en la síntesis de AGPI.....	17
4.7. AGPI durante el embarazo y lactancia materna.....	18
4.8. Traspaso de AGPI madre-hijo durante el embarazo y lactancia.....	18
4.9. Posibles efectos generados por una baja ingesta de ALA y/o la dieta alta en grasa en la composición de AG de la descendencia.....	19
4.10. Formulación general del proyecto.....	20
5. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.....	21
5.1. Pregunta de investigación.....	21

5.2. Hipótesis .....	21
5.3. Objetivo general .....	21
5.4. Objetivos específicos.....	21
6. METODOLOGÍA.....	22
6.1. Definición de la muestra.....	22
6.2. Definición del diseño de la investigación.....	22
6.3. Protocolo de intervención.....	22
6.4. Grupos experimentales .....	23
6.5. Definición de variables .....	23
6.6. Procedimientos y técnicas utilizadas .....	24
6.7. Elaboración del plan de análisis y técnicas estadísticas .....	26
7. RESULTADOS .....	27
7.1 Descripción peso materno y de las crías.....	27
7.2. Efectos de una dieta control y alta en grasas de composición variable en ALA (<1% y 6%), sobre la composición de AG en tejidos hasta la pre-pubertad en crías de ratas. .	27
7.3. Efectos de una dieta control y alta en grasas de composición variable en ALA (<1% y 6%), sobre la composición de AG en tejidos maternos de ratas.....	34
8. DISCUSIÓN.....	36
8.1. Efecto de las intervenciones en el peso y adiposidad materna de madres y crías ..	36
8.2. Efecto de las intervenciones en corazón de crías .....	36
8.3. Efecto de las intervenciones en riñón de crías.....	37
8.4. Efecto de las intervenciones en testículos de crías .....	38
8.5. Efecto de las intervenciones en ojos de crías .....	38
8.6. Efecto de las intervenciones en tejido adiposo de crías.....	39
8.7. Efecto de las intervenciones en hígado de crías .....	39
8.8. Efecto de las intervenciones en cerebro de crías .....	40
8.9. Efecto de las intervenciones en eritrocitos de crías .....	42
8.10. Efecto de las intervenciones en contenido estomacal de crías .....	42
8.11. Efecto de las intervenciones en intestino de crías .....	43

8.12.	Efecto de las intervenciones en músculo de crías.....	43
8.13.	Efecto de las intervenciones en pulmón de crías.....	44
8.14.	Efecto de las intervenciones en hígado de madres .....	45
8.15.	Efecto de las intervenciones en eritrocitos de madres.....	45
8.16.	Efecto de las intervenciones en tejido adiposo de madres.....	46
9.	CONCLUSIONES.....	48
10.	REFERENCIAS .....	49
11.	ANEXOS .....	54

v. **Índice de tablas**

<b>Contenido</b>	<b>N° de página</b>
Tabla 1. Información nutricional de las dietas experimentales .....	56

## vi. Índice de figuras

<b>Contenido</b>	<b>N° de página</b>
Figura 1. Ruta metabólica de la síntesis de AGPI n-6 y n-3 .....	54
Figura 2. Protocolo de intervención .....	55
Figura 3. Peso y adiposidad materna .....	58
Figura 4. Peso y adiposidad de las crías .....	59
Figura 5. Composición de AG en corazón de crías .....	60
Figura 6. Composición de AG en riñón de crías .....	61
Figura 7. Composición de AG en testículos de crías.....	62
Figura 8. Composición de AG en ojos de crías .....	63
Figura 9. Composición de AG en tejido adiposo de crías .....	64
Figura 10. Composición de AG en hígado de crías .....	65
Figura 11. Composición de AG en cerebro de crías.....	66
Figura 12. Composición de AG en eritrocitos de crías.....	67
Figura 13. Composición de AG en contenido estomacal de crías .....	68
Figura 14. Composición de AG en intestino de crías .....	69
Figura 15. Composición de AG en músculo de crías .....	70
Figura 16. Composición de AG en pulmón de crías.....	71
Figura 17. Composición de AG en hígado de madres .....	72
Figura 18. Composición de AG en eritrocitos de madres.....	73
Figura 19. Composición de AG en tejido adiposo de madres .....	74

## **vii. Índice de anexos**

<b>Contenido</b>	<b>Nº de página</b>
Anexo 1. Ruta metabólica de la síntesis de AGPI n-6 y n-3	54
Anexo 2. Protocolo de intervención	55
Anexo 3. Información nutricional de las dietas experimentales	56
Anexo 4. Peso y adiposidad materna	58
Anexo 5. Peso y adiposidad de las crías	59
Anexo 6. Composición de AG en corazón de crías	60
Anexo 7. Composición de AG en riñón de crías	61
Anexo 8. Composición de AG en testículos de crías	62
Anexo 9. Composición de AG en ojos de crías	63
Anexo 10. Composición de AG en tejido adiposo de crías	64
Anexo 11. Composición de AG en hígado de crías	65
Anexo 12. Composición de AG en cerebro de crías	66
Anexo 13. Composición de AG en eritrocitos de crías	67
Anexo 14. Composición de AG en contenido estomacal de crías	68
Anexo 15. Composición de AG en intestino de crías	69
Anexo 16. Composición de AG en músculo de crías	70
Anexo 17. Composición de AG en pulmón de crías	71
Anexo 18. Composición de AG en hígado de madres	72
Anexo 19. Composición de AG en eritrocitos de madres	73
Anexo 20. Composición de AG en tejido adiposo de madres	74

### **viii. Lista de abreviaturas**

<b>AA</b>	Ácido araquidónico
<b>AG</b>	Ácidos grasos
<b>AGE</b>	Ácidos grasos esenciales
<b>AGPI</b>	AG poliinsaturados
<b>ALA</b>	Ácido $\alpha$ -linolénico
<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza
<b>CD</b>	Dieta control
<b>COX-2</b>	Ciclooxigenasa 2
<b>DHA</b>	Ácido docosahexaenoico
<b>Elov12</b>	Elongasa-2
<b>Elov15</b>	Elongasa-5
<b>EPA</b>	Ácido eicosapentaenoico
<b>FAO</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
<b>HFD</b>	Dieta alta en grasa
<b>IC</b>	Intervalo de confianza
<b>LA</b>	Ácido linoleico
<b>n-6</b>	Omega 6
<b>n-3</b>	Omega 3
<b>RE</b>	Retículo endoplásmico
<b><math>\Delta</math>5D</b>	$\Delta$ 5-desaturasa
<b><math>\Delta</math>6D</b>	$\Delta$ 6-desaturasa

## 2. RESUMEN

**Introducción:** Los ácidos linoleico (LA) y  $\alpha$ -linolénico (ALA) son precursores de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) omega-6 (n-6) y omega-3 (n-3), ácidos grasos esenciales (AGE) que los mamíferos no tienen la capacidad para sintetizar. Estos compiten por las mismas enzimas para convertirse en ácido araquidónico (AA) y ácido docosahexaenoico (DHA). Un desbalance en la proporción n-6/n-3 y una dieta alta en grasa (HFD) pueden alterar su conversión y acumulación en los tejidos, llevando a inflamación y enfermedades crónicas. Durante el embarazo y la lactancia, una ingesta adecuada de AGPI n-3 es esencial, mientras que un exceso de n-6 y HFD puede afectar negativamente la composición de lípidos fetales y predisponer a enfermedades en la descendencia. **Objetivo:** Determinar los efectos de una baja ingesta de ALA y/o la dieta alta en grasa materna sobre la composición de AG en tejidos maternos (hígado, tejido adiposo y eritrocitos) y de la cría (hepático, eritrocitario, adiposo, cardíaco, renal, intestinal, muscular, cerebral, testicular, ocular, pulmonar y contenido estomacal) hasta la pre-pubertad en ratas. **Métodos:** Estudio experimental, aleatorizado, controlado y prospectivo en ratas Sprague Dawley. Los animales se dividieron en cuatro grupos de intervención: CD-<1%-ALA, CD-6%-ALA, HFD-<1%-ALA, HFD-6%-ALA durante toda la fase pregestacional, prenatal y post natal hasta la preadolescencia. Luego del destete, las crías continuaron con la misma alimentación de sus madres. **Resultados:** La acumulación de AGPI n-3 varió entre los tejidos analizados, sugiriendo una conversión de ALA específica para cada uno. El hígado tiene la mayor capacidad para la biosíntesis de AGPI en ratas, mientras que los tejidos extrahepáticos muestran una actividad limitada. Además, la dieta de la madre no siempre tuvo relación con la concentración de AGPI en las crías. **Conclusiones:** La conversión de ALA es selectiva para cada tipo de tejido. Las reservas maternas se convierten en una fuente importante de transferencia de AGPI n-3 a las crías en respuesta a estresores como el tipo de dieta. Se sugiere que futuros estudios utilicen ALA marcado para determinar con mayor precisión la proporción de AG que se destinan realmente a almacenamiento en tejidos.

### 3. ABSTRACT

**Introduction:** Linoleic acid (LA) and  $\alpha$ -linolenic acid (ALA) are precursors of omega-6 (n-6) and omega-3 (n-3) polyunsaturated fatty acids (PUFAs), essential fatty acids that mammals cannot synthesize. They compete for the same enzymes to convert into arachidonic acid (AA) and docosahexaenoic acid (DHA). An imbalance in the n-6/n-3 ratio and a high-fat diet (HFD) can alter their conversion and accumulation in tissues, leading to inflammation and chronic diseases. During pregnancy and lactation, adequate intake of n-3 is essential, while excess n-6 and HFD can negatively affect fetal lipid composition and predispose offspring to diseases. **Objective:** To determine the effects of low ALA intake and maternal high-fat diet on the fatty acid composition in maternal tissues (liver, adipose tissue, and erythrocytes) and offspring tissues (hepatic, erythrocytic, adipose, cardiac, renal, intestinal, muscular, cerebral, testicular, ocular, pulmonary, and stomach contents) up to pre-puberty in rats. **Methods:** This experimental, randomized, controlled, and prospective study involved Sprague Dawley rats divided into four intervention groups: CD-<1%-ALA, CD-6%-ALA, HFD-<1%-ALA, and HFD-6%-ALA throughout the pre-gestational, prenatal, and postnatal phases until preadolescence. After weaning, the offspring continued with their mother's diet. **Results:** The accumulation of n-3 PUFAs varied among the analyzed tissues, suggesting that ALA conversion is tissue-specific. The liver has the highest capacity for PUFAs biosynthesis in rats, while extrahepatic tissues show limited activity. Additionally, the maternal diet did not always correlate with PUFAs concentrations in the offspring. **Conclusions:** ALA conversion is tissue-specific. Maternal reserves become an important source of n-3 PUFAs transfer to offspring in response to dietary stressors. Future studies should use labeled ALA to determine the proportion of PUFAs allocated to tissue storage.

## **4. INTRODUCCIÓN**

### **4.1. Relevancia de los ácidos grasos para el organismo**

Los ácidos grasos (AG), como parte de moléculas o actuando individualmente, tienen diversas funciones celulares cruciales, incluyendo la producción de energía, la composición de la membrana celular y la regulación de los procesos celulares actuando como moléculas de señalización (1). El papel de determinados AG dietéticos en la prevención o progresión de enfermedades crónicas ha generado un interés de larga data (2). Los AG se pueden clasificar en tres categorías en función del número de dobles enlaces de las cadenas laterales: 1.- AG saturados que no tienen dobles enlaces; 2.- AG monoinsaturados que tienen un doble enlace; 3.- AG poliinsaturados (AGPI) que tienen 2 o más dobles enlaces (3).

### **4.2. Importancia de los AGPI**

Dentro de los AGPI, los omega-6 (n-6) y omega-3 (n-3) juegan un papel fundamental en la regulación de la homeostasis corporal, sobre todo en el crecimiento, desarrollo y función normal de los tejidos, además, la interacción de estos AGPI con factores de transcripción, tiene implicaciones para el funcionamiento de tejidos específicos, el metabolismo hepático, la respuesta inflamatoria y la salud respiratoria (1,4). Sus precursores, el ácido linoleico (C18:2 n-6, LA) y ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3 n-3, ALA), se consideran ácidos grasos esenciales (AGE) para humanos y otros mamíferos, debido a que carecen de la maquinaria enzimática para sintetizar estos AG, por lo que deben ser obtenidos a través de la dieta (4). Pueden ejercer sus efectos por sí mismos o a través de eicosanoides y docosanoides, los cuales actúan localmente modulando el estado inflamatorio mediante lípidos de señalización bioactivos (5). Los eicosanoides demuestran efectos opuestos según la serie de AGPI de la que derivan, siendo los eicosanoides n-6 pro-inflamatorios, mientras que los de la familia n-3 se consideran anti-inflamatorios (6). El ácido docosahexaenoico (C22:6 n-3, DHA) por otro lado, puede metabolizarse a docosanoides como resolvinas, maresinas y protectinas que participan activamente en la resolución de la inflamación (6). Por lo tanto, una alta relación n-6/n-3 desequilibrada es altamente inflamatoria y puede contribuir a una variedad de enfermedades crónicas, como la obesidad, la aterosclerosis y la diabetes (7). Este efecto también se ha estudiado en modelos animales como ratas, en donde se ha observado que el desbalance en esta relación, produce una alteración en la acumulación de lípidos en los tejidos

(8). LA y ALA, tienen funciones metabólicas específicas, pero una de las más importantes es ser precursores de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), como el ácido araquidónico (C20:4 n-6, AA) y el DHA, respectivamente (4).

#### **4.3. Esencialidad e importancia del ALA**

Como se mencionó anteriormente, ALA es un AGE, que está presente en niveles considerables en la mayoría de los lípidos celulares, en particular, en los fosfolípidos de membrana y es mediador de diferentes procesos fisiológicos, incluida la transducción de señales, el metabolismo celular y la homeostasis tisular para combatir enfermedades (9). La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) indica que una ingesta de ALA de 0.5-0.6% de las calorías totales, previene los síntomas de deficiencia (10). Hay dos destinos metabólicos básicos para ALA, en primer lugar, se somete a  $\beta$ -oxidación y reciclaje extensivo de carbono, en segundo lugar, mediante reacciones de elongación y desaturación (11), produce AGPI de la familia n-3: ácido eicosapentaenoico (C20:5 n-3, EPA) y DHA, los cuales cumplen funciones fisiológicas y metabólicas vitales en el desarrollo cerebral, visual, homeostasis vascular y respuestas inflamatorias (4). Es importante mencionar que los mamíferos no pueden sintetizar AGPI n-3 de *novo*, pero pueden producir DHA y otros n-3 a partir de ALA, o pueden obtenerlos a través de fuentes marinas, nutracéuticos o alimentos funcionales (12).

#### **4.4. ALA como precursor de los AGPI n-3**

ALA se puede transformar en EPA y posteriormente en DHA, por ende, se considera una fuente dietética para proporcionar y mantener los niveles requeridos de DHA en los tejidos (13). Los estudios proporcionan evidencia que indica que la acumulación de AG depende del tejido, lo que sugiere que el metabolismo se basa en una necesidad selectiva (11). El DHA por su parte, es mucho más eficiente para ingresar a las reservas de fosfolípidos del cerebro en comparación con ALA, debido a la baja tasa de conversión de ALA a DHA, pero aun así, ALA puede producir DHA en el cerebro (11). Lo anterior también ocurre en modelos animales como el de ratas, ya que las tasas de conversión de DHA a partir de ALA son comparables a los resultados de estudios en humanos, lo que sugiere que la síntesis de DHA es similar entre ratas y humanos y que la rata puede ser un modelo adecuado para la

validación de los métodos de síntesis de DHA en humanos (14). El DHA está altamente concentrado en el cerebro, al menos 50 veces más que EPA y 200 veces más que ALA, y es importante para su función ya que regula el crecimiento, diferenciación neuronal, neurogénesis, y sus mediadores lipídicos regulan además, procesos de neurotransmisión, supervivencia celular y neuroinflamación (5,12).

#### **4.5. Síntesis de AGPI**

Los AGPI de la familia n-3 se sintetizan a través de un complejo proceso de desaturación, elongación y  $\beta$ -oxidación, que se produce en mayor medida en el hígado (30 veces más), en comparación con el corazón o el cerebro (12). Las desaturaciones y elongaciones ocurren en el retículo endoplásmico (RE) y la  $\beta$ -oxidación en los peroxisomas (15). Estas enzimas también son utilizadas por los AGPI n-6, lo que genera una competencia entre la línea n-6 y n-3 (8). Esta competencia es más evidente para la  $\Delta 6$ -desaturasa ( $\Delta 6D$ ), que se cree que es una reacción limitante de velocidad en la vía (12). La descripción de la ruta metabólica de síntesis AGPI n-6 y n-3 se detalla en el anexo 1. Cabe destacar, que se ha sugerido que los factores genéticos, cambios hormonales, enfermedades como la diabetes tipo 2 y enfermedad de hígado graso no alcohólico, envejecimiento, factores de estilos de vida (como actividad física, tabaquismo, consumo de alcohol, estado nutricional e ingesta dietética), afectan la capacidad biosintética de los AGPI al modular la actividad o expresión de enzimas desaturasas (6).

#### **4.6. Impacto de los nutrientes en la síntesis de AGPI**

Una alta ingesta de LA resulta en un aumento en los niveles de AA, así como una reducción en el contenido de AGPI n-3 (ALA y especialmente EPA o DHA) en sangre, lo que podría estar relacionado con la potenciación en el desarrollo de enfermedades crónicas o procesos inflamatorios (1,8). Se ha demostrado que una relación desequilibrada de AGPI n-6/n-3 a favor de AGPI n-6 es altamente protrombótica y proinflamatoria, lo que contribuye a la prevalencia de obesidad, enfermedad cardiovascular y síndrome metabólico (16). Por el contrario, las dietas con proporciones bajas de n-6/n-3 se asocian con beneficios cognitivos y un menor riesgo de depresión (8). El LA y el ALA compiten por las mismas enzimas desaturasas y elongasas, lo que significa que su tasa de conversión a AA y DHA depende de

las cantidades relativas consumidas y el agotamiento excesivo de uno reduce significativamente la producción del otro (8,16). Por lo tanto, la ingesta de AG dietéticos con diferentes proporciones de LA/ALA causa cambios no solo en los niveles de AG en los tejidos, sino también en sus productos posteriores (16). La dieta alta en grasa (HFD) puede disminuir la síntesis endógena de AGPI (1). En ratones de 8 semanas alimentados con una dieta rica en grasas durante 16 semanas que contenía una baja proporción de LA/ALA, se observó un aumento significativo de la capacidad antioxidante del hígado y una disminución de los niveles de triglicéridos y colesterol total en el hígado (16).

#### **4.7. AGPI durante el embarazo y lactancia materna**

El estado nutricional materno tiene un papel crucial, dado que un óptimo estado de AGPI n-3 durante el embarazo, es esencial para el desarrollo cognitivo y visual de la descendencia y está relacionado con una reducción en el número de partos prematuros y bajo peso al nacer, y un riesgo reducido de preeclampsia y depresión postparto para la madre (17). Por otra parte, niveles altos de n-6 antes o durante el embarazo puede tener efectos negativos en el desarrollo fetal y puede influir en la salud general de la descendencia en etapas posteriores de la vida (18). La evidencia sugiere que factores, como la dieta, edad, nivel socioeconómico, educación, tabaquismo y niveles de actividad física, pueden afectar los niveles de AG en mujeres embarazadas (17). Los AG n-3 también parecen ser importantes durante el período de lactancia, ya que su consumo puede mejorar el desarrollo psicomotor de los bebés y reducir el riesgo de alergias infantiles (19). Para las mujeres embarazadas o lactantes la FAO establece una ingesta mínima de 0.3 g diarios de EPA más DHA, de los cuales al menos 0.2 g diarios deben corresponder al DHA (10). Una mayor ingesta de DHA de la madre puede aumentar el estado de DHA del lactante (20).

#### **4.8. Traspaso de AGPI madre-hijo durante el embarazo y lactancia**

En el útero, los fetos dependen de la transferencia de AGPI a través de la placenta y el cordón umbilical (21), ya que la placenta carece de las enzimas  $\Delta 5D$  y  $\Delta 6D$  para la conversión de AGE en AGPI, y el feto solo tiene una actividad limitada de desaturasas (22). Durante el último trimestre de la gestación, se produce en el feto un crecimiento acelerado del cerebro, acompañado de una acumulación considerable de AGPI (23). El transporte de lípidos

placentarios tiene especificidad por DHA y se acumula preferentemente en la circulación fetal (22). Por ejemplo, se han encontrado mayores concentraciones de DHA en la sangre del cordón umbilical en comparación con la concentración plasmática materna, lo que indica que puede haber cierta selectividad para que los AG se transfieran más fácilmente a través de la placenta (22). El mecanismo del paso de DHA por la placenta aún no se comprende completamente (24). Se han identificado diversas proteínas capaces de unir AG en las células placentarias de mamíferos, y se postula que estas facilitan la transferencia de AG a través de las membranas (24). La proteína específica de la placenta podría desempeñar un papel en la absorción preferencial de AGPI, ya que se ha observado que tiene una afinidad preferencial por DHA (24). La lipoproteína lipasa placentaria por otra parte, es una enzima que se cree que hidroliza los triglicéridos del plasma materno en AG libres para la captación y transferencia placentaria (22). Además, la lipasa endotelial se ha observado en la placenta humana a término y tiene una alta actividad de fosfolipasa, lo que implica que no solo los triglicéridos sino también los fosfolípidos pueden proporcionar AG para la transferencia placentaria al feto (22). Los AGPI transferidos de la madre al bebé durante la lactancia se incorporan a las membranas de los tejidos en crecimiento de manera esencial, ya que la síntesis de estos compuestos al nacer existe, pero es insuficiente para mantener concentraciones apropiadas durante la infancia (25). En el sistema nervioso central, la proporción de AG de membrana como DHA aumenta a medida que aumenta el tamaño del cerebro y el aumento en la proporción de AG continúa durante el segundo año de vida incluso cuando el crecimiento del cerebro comienza a estabilizarse (20).

#### **4.9. Posibles efectos generados por una baja ingesta de ALA y/o la dieta alta en grasa en la composición de AG de la descendencia.**

Las dietas maternas ricas en AG n-6 están asociadas con el origen temprano de la obesidad (26) y una proporción elevada de AG n-6/n-3, se asocia negativamente con aspectos del desarrollo neurológico del niño (27). Es importante mencionar que lo anterior es bastante relevante, dado el aumento del consumo de LA y la disminución de los alimentos ricos en ALA por la población, lo que ha alterado por ejemplo, la composición de AG de la leche materna, desfavoreciendo el perfil de AGPI n-3 (28). Por otra parte, el exceso de adiposidad altera la transferencia de AGPI a la placenta, lo que conduce a una menor acumulación de

AGPI n-3, por consiguiente, se altera el perfil de lípidos fetales que puede conducir a un perfil inflamatorio alterado (29). Además, modifica la composición de la leche materna, afectando el desarrollo y la programación genética de múltiples órganos fetales (30). Estos cambios confieren a la descendencia un mayor riesgo de obesidad y complicaciones relacionadas, trastornos neuropsiquiátricos, asma y cáncer (30). En ratas, se ha observado que un mayor consumo de AGPI n-3 resultaría en una sustitución parcial de AA por EPA y DHA en las membranas celulares, mientras que una mayor ingesta de AGPI n-6 reduciría los niveles de DHA y aumenta los de AA (31).

#### **4.10. Formulación general del proyecto**

ALA es un AGE, que está presente en niveles considerables en la mayoría de los lípidos celulares y juega un papel fundamental en la regulación de la homeostasis corporal, sobre todo en el crecimiento, desarrollo y función normal de los tejidos. Un desbalance en la proporción del perfil de AGPI n-6/n-3, actúa como factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares, obesidad, degeneración neurológica, entre otras. Este desbalance puede también puede traer consecuencias en la descendencia, puesto que niveles altos de n-6 puede tener efectos negativos en el desarrollo de la descendencia e influir negativamente en la acumulación de AGPI en los diferentes tejidos. Por otra parte, el exceso de adiposidad de la madre altera la transferencia de AGPI a la placenta y modifica la composición de la leche materna, lo que afecta al desarrollo y la programación genética de múltiples órganos fetales. Estos cambios confieren a la descendencia un mayor riesgo de obesidad y complicaciones relacionadas.

Por lo tanto, en base a la evidencia científica presentada, en este estudio se pretende evaluar la composición de AG en tejidos maternos y de la cría hasta la pre-pubertad, para evaluar las diferencias existentes entre los grupos con un bajo consumo de ALA y/o dieta alta en grasa comparado con su control en un modelo animal.

## **5. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS**

### **5.1. Pregunta de investigación**

¿Cuál es el impacto que puede producir una baja ingesta materna de ALA y/o dieta alta en grasa sobre la composición de AG en tejidos maternos (hepático, adiposo y eritrocitario) y de la cría (hepático, eritrocitario, adiposo, cardíaco, renal, intestinal, muscular, cerebral, testicular, ocular, pulmonar y contenido estomacal) hasta la pre-pubertad en ratas?.

### **5.2. Hipótesis**

Una baja ingesta de ALA y/o la dieta alta en grasa materna alterará negativamente la composición de AG en tejidos maternos (hígado, tejido adiposo y eritrocitos) y de la cría (hígado, eritrocitos, tejido adiposo, corazón, riñón, intestino, músculo, cerebro, testículo, ojos, pulmón y contenido estomacal) hasta la pre-pubertad en ratas, desfavoreciendo el perfil de AGPI n-3.

### **5.3. Objetivo general**

Determinar los efectos de una baja ingesta de ALA y/o la dieta alta en grasas materna sobre la composición de AG en tejidos maternos (hígado, tejido adiposo y eritrocitos) y de la cría (hígado, eritrocitos, tejido adiposo, corazón, riñón, intestino, músculo, cerebro, testículos, ojo, pulmón y contenido estomacal) hasta la pre-pubertad en ratas.

### **5.4. Objetivos específicos**

5.4.1 Evaluar los efectos de una dieta control y alta en grasas de composición variable en ALA (<1 y 6%), sobre la composición de AG en tejidos hasta la pre-pubertad en crías de ratas.

5.4.2 Evaluar los efectos de una dieta control y alta en grasas de composición variable en ALA (<1 y 6%), sobre la composición de AG en tejidos maternos de ratas.

## **6. METODOLOGÍA**

### **6.1. Definición de la muestra**

Se utilizaron ratas hembras (Sprague Dawley) que se obtuvieron del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso. Se trabajó con esta cepa de ratas ya que son tranquilas, fáciles de manipular, de rápido crecimiento y de buen rendimiento reproductivo. El cálculo del tamaño muestral se realizó considerando como variable crítica el cambio en la composición de AG en tejido hepático, con una disminución de la composición de AG tisulares del 50%, nivel de confianza del 95%, con un poder de 0,8 y una proporción esperada de pérdida de animales del 10%. El tamaño muestral estimado fue de 6 ratas (madres) por grupo, dando un total de 24 animales.

### **6.2. Definición del diseño de la investigación**

Estudio experimental, aleatorizado, controlado, prospectivo, en modelo animal de rata. El diseño del estudio fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Universidad de Valparaíso (CICUAL-UV), (Protocolo BEA 182-22).

### **6.3. Protocolo de intervención**

Las ratas vivieron en una habitación con control de temperatura y ciclo luz/oscuridad de 12 horas. Desde el día pregestacional 0 hasta el 84, se alimentó a los ratas Sprague Dawley con dieta control (CD) o dieta alta en grasa (HFD) a base de manteca de cerdo con una proporción variable de ALA (<1% o 6%). En el momento del apareamiento, las madres continuaron en el mismo grupo de intervención y consumieron la dieta durante la preñez (21 días) y período postnatal (21 días). Una vez que nacieron las crías, fueron amamantadas por sus madres (que continuaron con su respectiva dieta) hasta el día postnatal 21, en donde comenzó la pre-pubertad. Durante la pre-pubertad, entre día postnatal 22 a 29, las ratas continuaron siendo alimentadas con la misma dieta que las madres. La recolección de muestras se realizó al finalizar el período de intervención (Anexo 2).

## 6.4. Grupos experimentales

Tabla 1. Grupos experimentales

Grupos experimentales	Tratamiento
Grupo 1	CD-<1%-ALA ( <1% kcal totales de ALA)
Grupo 2	CD-6%-ALA (6% kcal totales de ALA)
Grupo 3	HFD-<1%-ALA ( <1% kcal totales de ALA)
Grupo 4	HFD-6%-ALA (6% kcal totales de ALA)

ALA, ácido  $\alpha$ -linolénico; CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa.

## 6.5. Definición de variables

Tabla 2. Variables descriptivas

Variable	Tipo de variable	Clasificación
Peso materno	Cuantitativa, continua	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Incremento de peso</li> <li>● Ganancia incremental</li> <li>● Peso período pre-gestacional, gestacional y lactancia</li> <li>● Adiposidad</li> </ul>
Peso de crías	Cuantitativa, continua	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Peso día 7, 21 y 29</li> <li>● Adiposidad</li> </ul>

Tabla 3. Variables independientes

Variable	Tipo de variable	Clasificación
Dieta	Cualitativa, nominal	<ul style="list-style-type: none"> <li>● CD-&lt;1%-ALA</li> <li>● CD-6%-ALA</li> <li>● HFD-&lt;1%-ALA</li> <li>● HFD-6%-ALA</li> </ul>
Días de intervención	Cuantitativa, discreta	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Día 7</li> <li>● Día 21</li> <li>● Día 29</li> </ul>

ALA, ácido  $\alpha$ -linolénico; CD, dieta control; HFD, dieta alta en grasa

Tabla 4. Variables dependientes

Variable	Indicador	Método
Contenido de AG	Perfil de AG de hígado (mg/g)	Cromatografía de gases
	Perfil de AG de eritrocitos (mg/g)	Cromatografía de gases
	Perfil de AG de tejido adiposo (mg/g)	Cromatografía de gases
	Perfil de AG de corazón (mg/g)	Cromatografía de gases
	Perfil de AG de riñón (mg/g)	Cromatografía de gases
	Perfil de AG de intestino (mg/g)	Cromatografía de gases
	Perfil de AG de músculo (mg/g)	Cromatografía de gases
	Perfil de AG de cerebro (mg/g)	Cromatografía de gases
	Perfil de AG de testículo (mg/g)	Cromatografía de gases
	Perfil de AG de ojo (mg/g)	Cromatografía de gases
	Perfil de AG de pulmón (mg/g)	Cromatografía de gases
	Perfil de AG de contenido estomacal (mg/g)	Cromatografía de gases

AG, ácidos grasos.

## 6.6. Procedimientos y técnicas utilizadas

### 6.6.1. Dietas

Para todos los animales hubo libre acceso a comida y agua. Todas las dietas fueron estandarizadas en macro y micronutrientes y fueron obtenidas desde el laboratorio Research Diets Inc. Las CD estaban compuestas por 10% de lípidos, 20% de proteína y 70% de carbohidratos y entregaron un aporte de <1% de ALA, 28.3% de LA y una proporción de n6:n3 de 90.1 (D22072211) o 6% de ALA, 22.3% de LA y una proporción de n6:n3 de 3.7 (D22072209). Por otro lado, las HFD estuvieron compuestas por 60% de lípidos, 20% de proteína y 20% de carbohidratos y entregaron un aporte de <1% de ALA, 28.8% de LA y una proporción de n6:n3 de 365.0 (D22072205) o 6% de ALA, 23.1% de LA y una

proporción de n6:n3 de 4.0 (D22072206). La composición en detalle de cada una se detalla en el Anexo 3.

### **6.6.2. Eutanasias y conservación de tejidos**

Los animales fueron criados en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso y posteriormente eutanasiados en el Laboratorio de Neurobiología de la misma Universidad, en los días 7, 21 y 29 del período postnatal. Los tejidos fueron transportados al Laboratorio de Lípidos y Cromatografía de la Universidad de Chile en cajas térmicas con hielo seco, donde se almacenaron hasta su análisis. Las eutanasias comenzaron en el mes de Febrero y finalizaron en el mes de Septiembre.

### **6.6.3. Análisis de AG**

Se aplicó el método de Bligh and Dyer (32) para la extracción de lípidos totales. Se utilizó entre 100 y 150 mg de tejidos que fueron homogenizados utilizando una proporción de 2:1 de metanol/cloroformo y butilhidroxitolueno en etanol al 1%. Luego, se agregó C23:0 (0,5 mg/ml) como estándar interno y cloruro de magnesio 0,5 N. Posteriormente, los tubos se sometieron a centrifugación (3500 rpm x 5 minutos) para obtener el cloroformo (fracción oleosa), que se extrajo y traspasó a un nuevo tubo de ensayo, que se sometió a una extracción del solvente con nitrógeno gaseoso para obtener el contenido total de grasa. Finalmente, se prepararon los ésteres metílicos de AG según la técnica de Morrison y Smith (33), en donde, los lípidos saponificables se derivatizaron a ésteres metílicos mediante hidrólisis alcalina y ácida utilizando hidróxido de sodio en metanol (0,5 N), trifloruro de boro al 12% en metanol, agregando finalmente cloruro de sodio saturado. Por último, los ésteres metílicos de AG fueron recolectados para ser cuantificados mediante cromatografía gas-líquida en el equipo Agilent Hewlett-Packard HP 7890-A. Los AG fueron identificados mediante comparación de sus tiempos de retención, utilizando como estándar interno el AG 23:0 (0,5 mg/ml) (Nu-Chek Prep INC). Los valores finales se expresaron como % de ésteres metílicos de AG (g de AG/100 g de tejido).

### **6.7. Elaboración del plan de análisis y técnicas estadísticas**

El procesamiento de los datos se realizó por medio del software GraphPad Prism 9. Para los análisis estadísticos se consideró un nivel de significancia de  $\alpha=0,05$  y un intervalo de confianza (IC) del 95%. La evaluación de la normalidad se realizó mediante el Test de Shapiro Wilk. Los resultados se expresaron como media  $\pm$  DE y se aplicó análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para determinar diferencias entre las variables: dieta y aporte de ALA, seguido de post test de Tukey para evaluar comparaciones múltiples por día y entre los grupos. Los resultados de evolución de peso y adiposidad de madres y crías también se expresaron como media  $\pm$  DE y se aplicó análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido del test de Tukey para comparaciones múltiples.

## **7. RESULTADOS**

### **7.1 Descripción peso materno y de las crías**

#### **7.1.1. Peso y adiposidad materna**

La información sobre el peso y adiposidad materna se encuentra en el Anexo 4. En cuanto al incremento de peso, se observó un aumento en todos los grupos al comparar la primera con la última semana, presentando un menor incremento el grupo CD-<1%-ALA en relación al resto de los grupos ( $p<0,05$ ). En términos de ganancia incremental, el grupo CD-6%-ALA presentó la mayor ganancia ( $p<0,05$ ), seguido por los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA. Con respecto al peso pre-gestacional y al final de la etapa de lactancia, el grupo CD-<1%-ALA presentó el menor peso ( $p<0,05$ ). Al término de la etapa gestacional, CD-<1%-ALA solo mostró diferencias con HFD-6%-ALA ( $p<0,05$ ). La adiposidad fue mayor en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA, los cuales fueron diferentes a los CD-<1%-ALA y CD-6%-ALA ( $p<0,05$ ).

#### **7.1.2 Peso y adiposidad de las crías**

La descripción del peso y adiposidad de las crías se detalla en el Anexo 5. En relación al peso de las crías en el día 7, se observó que el grupo HFD-<1%-ALA presentó el mayor peso, seguido de los grupos con ALA. Sin embargo, en los días 21 y 29, se observó un peso evidentemente más alto en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA ( $p<0,05$ ). Por otra parte, la adiposidad fue significativamente mayor en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA en comparación con los CD-<1%-ALA y CD-6%-ALA.

### **7.2. Efectos de una dieta control y alta en grasas de composición variable en ALA (<1% y 6%), sobre la composición de AG en tejidos hasta la pre-pubertad en crías de ratas.**

#### **7.2.1. Composición de AG en el corazón de crías**

El perfil de AG relevantes del corazón de las crías está disponible en el anexo 6. En cuanto a ALA, se aprecia una disminución significativa en los grupos sin ALA en el transcurso de los días, siendo HFD-6%-ALA el que presentó la mayor concentración en los días 7, 21 y 29. Respecto a la conversión a EPA, el grupo CD-6%-ALA mostró la menor concentración,

mientras que el resto de los grupos no presentaron diferencias significativas en los días 7 y 29. Algo similar ocurrió con DHA, donde el grupo CD-6%-ALA tuvo la menor cantidad en el día 29, mientras que CD-<1%-ALA destacó en los días 21 y 29. Por otro lado, el grupo CD-6%-ALA es el que presentó la menor concentración de LA en los días 7 y 21, pero en el día 29 los niveles fueron similares en los cuatro grupos. Es importante mencionar que en todos los grupos se observó una tendencia al alza desde el día 7 al 29 siendo significativo este aumento en todos los grupos excepto el HFD-6%-ALA. En cuanto a AA, no se presentaron diferencias significativas entre los grupos en el día 7, pero sí en los días 21 y 29, en donde los grupos sin ALA convirtieron en mayor cantidad LA a AA ( $p<0,05$ ). En relación al total de n-3, el grupo CD-6%-ALA mostró la menor concentración en los tres días, mientras que en cuanto al total de n-6, los grupos sin ALA presentaron la mayor concentración, siendo CD-6%-ALA, el grupo que obtuvo la concentración más baja en todos los días ( $p<0,05$ ).

### **7.2.2. Composición de AG en el riñón de crías**

El Anexo 7 contiene el perfil de AG relevantes del riñón de las crías. Respecto a ALA, se aprecia que los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA presentaron la mayor concentración a lo largo de los días, siendo esta diferencia significativa en ambos grupos en el día 29. En cuanto a la conversión a EPA, se observó una diferencia entre el día 7 y los días 21 y 29. En el primer día, los grupos sin ALA mostraron una mayor conversión a EPA ( $p<0,05$ ), sin embargo, en los días 21 y 29, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA presentaron la mayor concentración, siendo significativa esta diferencia solo en el día 21. En relación a LA, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA presentaron una mayor concentración en los tres días ( $p<0,05$ ). Por otra lado, el grupo CD-<1%-ALA presentó la mayor proporción de AA en los tres días ( $p<0,05$ ), mientras que el resto de los grupos no mostraron diferencias. Respecto al total de n-3, los grupos sin ALA evidenciaron una tendencia a la disminución con el paso de los días ( $p<0,05$ ). Finalmente, el grupo CD-6%-ALA presentó la menor cantidad de total de n-6 en todos los días ( $p<0,05$ ).

### **7.2.3. Composición de AG en los testículos de crías**

El perfil de AG relevantes de los testículos de las crías se detalla en el Anexo 8. En relación a ALA en el día 29, el grupo con la concentración más predominante fue HFD-<1%-ALA, mientras que en el día 29 fue el grupo CD-<1%-ALA y CD-6%-ALA. La conversión a EPA, fue mayor en los grupos sin ALA. Respecto a DHA, el grupo CD-6%-ALA presentó la mayor concentración en los días 21 y 29 ( $p<0,05$ ), mientras que HFD-6%-ALA mostró la menor proporción en los tres días. En cuanto a LA, se destacó una mayor concentración en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA en los días 21 y 29 ( $p<0,05$ ). La conversión a AA no tuvo una tendencia clara: en el día 21 predominaron los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA, mientras que en el día 29, el grupo HFD-6%-ALA destacó por su baja concentración y el resto de los grupos no presentaron diferencias significativas. Sobre el total de n-3 el grupo que destacó fue el CD-6%-ALA en el día 29 ( $p<0,05$ ), mientras que el CD-<1%-ALA presentó la menor cantidad en todos los días. Finalmente, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA presentaron la mayor concentración de total de n-6.

#### **7.2.4. Composición de AG en los ojos de crías**

El perfil de AG de los ojos de las crías se encuentra en el Anexo 9. El grupo HFD-<1%-ALA presentó la mayor concentración de ALA, seguido por CD-6%-ALA en los días 21 ( $p<0,05$ ) y 29 ( $p>0,05$ ). En cuanto a la conversión a EPA, los grupos sin ALA mostraron la mayor cantidad en los tres días. De manera similar, se observó la misma tendencia en DHA, pero de una manera mucho más evidente, siendo esta diferencia estadísticamente significativa respecto al resto de los grupos. Por otro lado, LA fue más alto en el grupo HFD-6%-ALA en el día 21, mientras que en el día 29 se destacaron los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA. Algo distinto sucede con AA, donde se observó que el grupo CD-6%-ALA tuvo la mayor concentración (a pesar de ser uno de los grupos que menos acumula LA) sin presentar diferencias significativas con HFD-<1%-ALA en los días 21 y 29. Por último, el total de n-3 es mayor en los grupos sin ALA ( $p<0,05$ ), mientras que los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA presentaron la mayor concentración de n-6 total en los días 21 y 29, siendo HFD-<1%-ALA similar a CD-6%-ALA en el día 21 y a HFD-6%-ALA en el día 29.

#### **7.2.5. Composición de AG en el tejido adiposo de crías**

El perfil de AG relevantes de tejido adiposo de las crías está disponible en el Anexo 10. La concentración de ALA disminuyó con el paso de los días en todos los grupos, siendo esta

disminución significativa en los grupos CD-<1%-ALA y CD-6%-ALA. Respecto a EPA, el grupo CD-6%-ALA no varió con el tiempo. En el día 7, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA presentaron los mayores valores ( $p<0,05$ ), mientras que en el día 21, aumentaron en CD-<1%-ALA y CD-6%-ALA, sin diferencias significativas con HFD-6%-ALA. En el día 29, HFD-6%-ALA tuvo la menor concentración ( $p<0,05$ ). En relación a DHA, solo CD-6%-ALA mostró un aumento a lo largo de los días ( $p<0,05$ ). En los días 7 y 21, HFD-<1%-ALA destacó ( $p<0,05$ ), mientras que en el día 29, CD-6%-ALA presentó la mayor cantidad, seguido por HFD-<1%-ALA. LA fue significativamente mayor en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA en todos los días de intervención. La conversión a AA disminuyó con el tiempo, en el día 7, los grupos con ALA tuvieron mayor concentración de AA, mientras que en los días 21 y 29, HFD-<1%-ALA tuvo la menor concentración ( $p<0,05$ ). Finalmente, el total de n-3 fue mayor en HFD-<1%-ALA en los días 7 y 21, y en CD-6%-ALA en el día 29. El total de n-6 fue significativamente mayor en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA, especialmente en HFD-<1%-ALA en los días 21 y 29.

#### **7.2.6. Composición de AG en el hígado de crías**

El Anexo 11 contiene el perfil de AG relevantes del hígado de las crías. En cuanto a ALA, los grupos con ALA presentaron mayor cantidad en los días 21 y 29, siendo CD-6%-ALA el único con un aumento progresivo ( $p<0,05$ ). La conversión a EPA fue mayor en CD-6%-ALA y HFD-<1%-ALA en los días 7 y 29, y en CD-<1%-ALA y CD-6%-ALA en el día 21. Similarmente, la conversión a DHA fue mayor en CD-6%-ALA y HFD-<1%-ALA en el día 29 ( $p<0,05$ ), mientras que en el día 7, fue mayor en los grupos sin ALA y en el día 21, el CD-<1%-ALA fue el grupo más predominante. Por otra parte, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA tuvo la mayor concentración de LA en los tres días. La conversión a AA fue mayor en HFD-<1%-ALA en el día 7 y 29 ( $p<0,05$ ), siendo similar a CD-6%-ALA en el día 29. Además, todos los grupos mostraron una disminución significativa, excepto HFD-<1%-ALA en los días 21 y 29. Por último, en el total de n-3, no se mostró una tendencia clara, CD-6%-ALA presentó la menor concentración en el día 7 ( $p<0,05$ ) y aumentó en el día 29 igualándose con HFD-<1%-ALA. El total de n-6 fue mayor en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA y disminuyó en los CD-<1%-ALA y CD-6%-ALA a lo largo de los días.

### **7.2.7. Composición de AG en el cerebro de crías**

El perfil de AG relevantes de cerebro de las crías se detalla en Anexo 12. Todos los grupos aumentaron su proporción en ALA con el tiempo, siendo CD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA los que presentaron mayor concentración en los días 21 y 29. En cuanto a la conversión a EPA, los grupos con ALA mostraron la mayor cantidad en los días 7 y 29. Algo similar ocurrió con DHA, donde los grupos con ALA tuvieron la mayor concentración ( $p<0,05$ ) en todos los días. Por otro lado, la conversión a AA en el cerebro fue significativamente diferente entre los grupos CD-<1%-ALA y CD-6%-ALA y los HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA en el día 21, pero no existieron diferencias significativas en el día 29. Por ende, el total de n-3 fue significativamente mayor en los grupos CD-6%-ALA y HFD-6%-ALA, mientras que los grupos sin ALA, presentaron la mayor cantidad de n-6 total ( $p<0,05$ ).

### **7.2.8. Composición de AG en eritrocitos de crías**

La información sobre el perfil de AG relevantes de eritrocitos se encuentra en el Anexo 13. En cuanto a ALA, HFD-<1%-ALA presentó una diferencia significativa respecto a los otros grupos. Para EPA y DHA, no existieron diferencias entre los grupos en el día 7, pero en el día 21, HFD-6%-ALA mostró la mayor concentración, y en el día 29, predominaron los grupos con ALA. En relación a LA, CD-<1%-ALA tuvo una alta concentración en el día 7, mientras que HFD-6%-ALA fue mayor en los días 21 y 29. Para AA, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA presentaron la mayor concentración en el día 7 ( $p<0,05$ ), pero en los días 21 y 29, CD-<1%-ALA fue el que más destacó. El total de n-3 fue mayor en HFD-<1%-ALA en el día 7, mientras que en el día 21, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA predominaron. En el día 29, CD-6%-ALA y HFD-<1%-ALA presentaron las mayores concentraciones, sin presentar diferencias significativas entre ellos. Finalmente, CD-<1%-ALA mostró la mayor concentración de n-6 total en los tres días ( $p<0,05$ ).

### **7.2.9. Composición de AG en el contenido estomacal de crías**

El perfil de AG relevantes del contenido estomacal de las crías está disponible en el Anexo 14. El contenido estomacal se evaluó solo en el día 7, ya que hasta este día, las ratas tenían lactancia materna exclusiva. El grupo CD-<1%-ALA tuvo la mayor proporción de ALA, sin presentar diferencias significativas con CD-6%-ALA, mientras que HFD-<1%-ALA mostró

los niveles más bajos ( $p < 0,05$ ). La conversión a EPA fue notablemente mayor en los grupos con ALA, sin presentar diferencias importantes entre ellos. En cuanto a DHA, CD-6%-ALA presentó la mayor concentración, seguido por HFD-6%-ALA, el cual no difirió significativamente con el grupo HFD-<1%-ALA. Por otro lado, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA tuvieron la mayor concentración de LA. La conversión a AA es superior en HFD-6%-ALA, mientras el resto de los grupos no mostraron diferencias significativas. CD-6%-ALA tuvo la mayor concentración total de n-3. Finalmente, el total de n-6 fue significativamente mayor en HFD-<1%, seguido por el grupo HFD-6%, sin presentar diferencias significativas los CD-<1%-ALA y CD-6%-ALA.

#### **7.2.10. Composición de AG en intestino de crías**

El Anexo 15 contiene el perfil de AG relevantes del intestino de las crías. La concentración de ALA, no presentó diferencias significativas entre los grupos en el día 7, pero sí en los días 21 y 29, destacando el grupo CD-<1%-ALA, que disminuyó significativamente su concentración del día 21 al 29. En cuanto a la conversión a EPA, en los días 21 y 29, el grupo HFD-<1%-ALA, mostró la menor conversión, mientras que el grupo HFD-6%-ALA predominó en el día 29 ( $p < 0,05$ ). La conversión a DHA, aumentó con el tiempo, excepto en HFD-<1%-ALA, que fue el único grupo que disminuyó su concentración en el día 29. En el día 7, la conversión a DHA fue mayor en los grupos con ALA, mientras que en los días 21 y 29, el grupo HFD-<1%-ALA destacó por su baja concentración. Los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA mostraron una mayor proporción de LA comparado con los CD-<1%-ALA y CD-6%-ALA en los tres días y no presentaron diferencias significativas entre ellos. La conversión a AA fue mayor en el grupo CD-<1%-ALA en los días 21 y 29 ( $p < 0,05$ ). Aunque en el día 7 no hubo diferencias significativas entre los grupos en cuanto al total de n-3, en el día 21, los grupos CD-<1%-ALA y CD-6%-ALA no mostraron diferencias significativas, mientras que en el día 29, predominó el CD-<1%-ALA. La proporción total de n-6 fue significativamente mayor en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA en los tres días.

#### **7.2.11. Composición de AG en músculo de crías**

El Anexo 16 describe el perfil de AG relevantes en el músculo de las crías. En los días 7, 21 y 29, la proporción de ALA fue mayor en el grupo HFD-6%-ALA, seguido por CD-6%-ALA

( $p < 0,05$ ). La conversión a EPA se mantuvo elevada en los grupos CD-6%-ALA y HFD-6%-ALA, mientras que HFD-<1%-ALA no presentó diferencias significativas con HFD-6%-ALA en ninguno de los días. De manera similar, el grupo CD-6%-ALA mostró la mayor cantidad de DHA, seguido por HFD-6%-ALA y HFD-<1%-ALA, siendo significativamente distintos estos grupos en los días 7 y 21. En cuanto a LA, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA tuvieron la mayor cantidad, mientras que CD-6%-ALA mostró la menor proporción en todos los días. La conversión a AA en el día 7 reveló que el grupo HFD-<1%-ALA fue el que más produjo AA, seguido por CD-6%-ALA. En el día 21, HFD-<1%-ALA disminuyó significativamente su producción, mientras que CD-<1%-ALA incrementó, seguido por CD-6%-ALA. Al día 29, el grupo CD-<1%-ALA mantuvo la concentración más alta, seguido por HFD-<1%-ALA, mientras que el resto de los grupos no presentaron diferencias significativas entre ellos. En cuanto al total de n-3, los grupos con ALA presentaron la mayor proporción. Finalmente, el total de n-6 fue mayor en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA, pero en los días 21 y 29, HFD-6%-ALA no mostró diferencias significativas con CD-<1%-ALA, siendo CD-6%-ALA el grupo con la menor proporción en los tres días.

#### **7.2.12. Composición de AG en pulmón de crías**

El perfil de AG relevantes de pulmón de las crías se detalla en el Anexo 17. El grupo CD-6%-ALA mostró la menor proporción de ALA en los tres días, mientras que CD-<1%-ALA tuvo la mayor cantidad en el día 7. En los días 21 y 29, los grupos HFD-6%-ALA y HFD-<1%-ALA presentaron las mayores proporciones, sin obtener diferencias significativas entre ellos y CD-<1%-ALA. En cuanto a la conversión a EPA y DHA, el grupo CD-6%-ALA tuvo la mayor cantidad, seguido por HFD-6%-ALA ( $p < 0,05$ ). LA presentó mayor concentración en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA, sin presentar diferencias significativas en los días 7 y 29. La conversión a AA en el día 7 fue más alta en CD-<1%-ALA ( $p < 0,05$ ). En el día 21 no hubo una tendencia clara, pero en el 29, los grupos sin ALA produjeron más AA. El total de n-3 no mostró una tendencia clara en los días 7 y 21, pero en el 29, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA tuvieron la mayor cantidad. Finalmente, el total de n-6 fue más alto en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA ( $p < 0,05$ ).

### **7.3. Efectos de una dieta control y alta en grasas de composición variable en ALA (<1% y 6%), sobre la composición de AG en tejidos maternos de ratas.**

#### **7.3.1. Composición de AG en hígado de madres**

El perfil de AG relevantes del hígado de las madres está disponible en el Anexo 18. En cuanto a ALA, el grupo HFD-6%-ALA exhibió la mayor proporción. La conversión a EPA fue más alta en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA, sin mostrar diferencias significativas entre ellos. Respecto a DHA, ocurrió algo similar que en ALA, donde el grupo HFD-6%-ALA presentó la mayor proporción. En relación a LA, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA tuvieron la mayor concentración. La conversión a AA fue más alta en el grupo CD-<1%-ALA, sin presentar diferencias significativas con los demás grupos. Finalmente, el total de n-3 fue mayor en el grupo HFD-6%-ALA, mientras que el total de n-6 mostró que los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA tuvieron la mayor concentración, en contraste con CD-6%-ALA, que fue significativamente menor.

#### **7.3.2. Composición de AG en eritrocitos de madres**

La información sobre el perfil de AG relevantes de eritrocitos de las madres se encuentra en el Anexo 19. En cuanto a ALA, se observó que el grupo HFD-6%-ALA fue el que mostró la menor proporción. En relación a la proporción de EPA, los grupos con ALA son los que presentaron la mayor conversión, sin presentar diferencias significativas entre ellos. En cuanto a DHA, se observó algo similar, pero el grupo HFD-6%-ALA presentó la mayor cantidad, seguido de CD-6%-ALA ( $p<0,05$ ). Por otra parte, los grupos HFD-6%-ALA y HFD-<1%-ALA presentaron la mayor proporción de LA. Respecto a la conversión de AA, no se observaron diferencias significativas entre los grupos. En cuanto al total de n-3, fue significativamente mayor en los grupos HFD-6%-ALA y CD-6%-ALA. Finalmente, en cuanto al total de n-6, el grupo CD-6%-ALA fue el que tuvo la menor concentración, mientras que el resto de los grupos no mostraron diferencias entre ellos ( $p<0,05$ ).

#### **7.3.3. Composición de AG en tejido adiposo de madres**

El perfil de AG relevantes de tejido adiposo de las madres está disponible en el Anexo 20. En relación a ALA, se observó que el grupo HFD-6%-ALA fue el que presentó la mayor proporción, el cual no tuvo diferencias significativas con HFD-<1%-ALA. Respecto a la

acumulación de EPA el grupo que destacó fue HFD-6%-ALA ( $p < 0,05$ ). Algo similar ocurrió con DHA, en donde el grupo que presentó la mayor proporción fue HFD-6%-ALA, seguido de CD-6%-ALA ( $p < 0,05$ ). Por otra parte, LA se presentó en mayor cantidad en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA ( $p < 0,05$ ), mientras que la conversión a AA fue en el grupo HFD-6%-ALA ( $p < 0,05$ ). En relación al total de n-3, se evidenció que el grupo que presentó la mayor concentración fue HFD-6%-ALA, mientras que los otros no presentaron diferencias significativas entre sí. Finalmente, el total de n-6 fue significativamente mayor en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA.

## **8. DISCUSIÓN**

### **8.1. Efecto de las intervenciones en el peso y adiposidad materna de madres y crías**

Los resultados de este estudio sugieren que la composición de la dieta materna no solo influye en el peso y adiposidad de las mismas, sino que también afecta de manera similar a sus crías. Este hallazgo es similar a otros estudios en ratas donde la administración de una dieta rica en grasas ha sido ampliamente utilizada para inducir la obesidad en animales, debido a una mayor síntesis y acumulación de tejido adiposo en forma de triacilglicéridos (34). Un aumento de la ingesta energética a través de una HFD, resulta en resistencia a la insulina, aumentos en los niveles séricos de triacilglicerol y colesterol, aumento en el estado de estrés oxidativo plasmático y hepático y una reducción significativa en la síntesis y almacenamiento de AGPI n-6 y n-3 (4). La lipólisis produce una liberación de AG libres y triglicéridos al torrente sanguíneo, los cuales son sustrato clave para la producción de triglicéridos VLDL en el hígado (34). La combinación de AG libres y triglicéridos reesterificados produce VLDL, permitiendo la circulación de grasas a través torrente sanguíneo (34). Una mayor formación de VLDL puede causar obesidad, resistencia a la insulina, dislipidemia y acumulación de colesterol en las arterias (34). Por otra parte, el aporte de ALA reduce las probabilidades de causar obesidad en comparación con el alto consumo de LA, ya que ALA puede mejorar el metabolismo de las grasas al regular la oxidación y las vías de síntesis de los AG (16). Se ha demostrado que la ingesta de ALA puede promover la oxidación de los AG mitocondriales y aumentar el gasto energético (16).

### **8.2. Efecto de las intervenciones en corazón de crías**

Las enzimas desaturasa y elongasa necesarias para la síntesis de AGPI, no se expresan con gran intensidad en el corazón a diferencia del hígado (12). Por lo mismo, este órgano debe obtener el DHA a partir de la sangre (35). Las tasas de síntesis de DHA en el corazón son bajas debido al déficit de la enzima elongasa-2 (elovl2), encargada de catalizar la elongación de DPA n-3 a 24:5n-3, penúltimo precursor del DHA, siendo este otro punto crucial en la síntesis de DHA (13). En animales alimentados con una dieta rica en ALA, no se han observado cambios significativos en los niveles de DHA en el corazón, lo que es consistente con la observación de que el corazón no es capaz de alargar el ALA a DHA (11), por consiguiente, el corazón tiene una actividad nula para convertir precursores en AGPI (1).

Esto coincide con los hallazgos de este estudio, ya que los grupos que más acumulan ALA (CD-6%-ALA y HFD-6%-ALA en los días 7 y 21), no son los que más DHA depositan en el corazón. Además es importante señalar que el ALA presente en el corazón se destina principalmente a  $\beta$ -oxidación, debido a que es un tejido metabólicamente muy exigente (4,35). El tejido cardíaco tiene una alta tasa de recambio de AG con una especificidad potencial para la lipólisis de AGPI como el DHA (36). En cuanto a la acumulación de LA, no se observaron diferencias destacables en la adultez, pero sí en el día 7, donde los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA presentaron la mayor concentración. Además, las dietas sin ALA aportan una mayor cantidad de LA, lo que se refleja en el aumento de AA, debido a que el LA y ALA compiten por las mismas enzimas desaturasas y elongasas, lo que significa que su tasa de conversión a AA y DHA depende de las cantidades relativas consumidas (8). Por tanto, las diferencias en las tasas de síntesis parecen depender de una mayor disponibilidad de sustrato (1). Lo anterior se podría relacionar con la potenciación en el desarrollo de enfermedades crónicas o procesos inflamatorios (1).

### **8.3. Efecto de las intervenciones en riñón de crías**

La presencia de proteínas y la actividad de desaturasas y elongasas en el riñón tiene una actividad limitada, por lo tanto, el transporte de AGPI hepáticos y dietéticos es crucial para la homeostasis de AGPI en el riñón y otros órganos extrahepáticos (1). Las dietas alta en grasas por otra parte, presentaron las mayores concentraciones de LA. Este tipo de dietas proporcionan una mayor cantidad de LA, lo que resulta en un aumento en su acumulación (1). En un estudio realizado el 2015 de Salem et al. se observó que el AA fue el AG más predominante en el riñón (37). Lo anterior, se condice con nuestros resultados debido a que el riñón fue uno de los órganos que tuvo mayor conversión a AA, siendo este aumento significativamente más alto en el grupo CD-1%-ALA en todos los días. Estudios recientes han demostrado que el AA y sus derivados activos, los eicosanoides, desempeñan papeles importantes en la regulación de la función renal fisiológica y la patogénesis de la enfermedad renal (38). La ciclooxigenasa 2 (COX-2) y sus productos, se consideran un importante mediador fisiológico de la función renal, al regular procesos como el manejo renal de la sal, vasodilatación arterial y desempeñar un papel protector para mantener el flujo sanguíneo renal (38).

#### **8.4. Efecto de las intervenciones en testículos de crías**

La presencia de proteínas y la actividad de desaturasas y elongasas en los testículos tiene una actividad limitada, por ende, los testículos dependen del transporte dietético y hepático para la homeostasis de AGPI (1). El AA modula la función mitocondrial y la inflamación, mientras que DHA es el AG más abundante y se considera un componente clave de la membrana del espermatozoide, además, sus niveles se correlacionan positivamente con el recuento total, concentración, vitalidad y motilidad de los espermatozoides, considerándose fundamentales por su rol en el desarrollo testicular y espermatogénesis, por lo tanto, se considera que tiene un rol relevante en la fertilización (4,39). En base a los resultados de este estudio, se evidencia que la conversión de ALA a DHA es mayor que la de LA a AA y que a pesar de que el grupo HFD-6%-ALA, cuenta con aporte de ALA, la conversión a DHA es significativamente menor comparado con CD-6%-ALA, no pudiendo alcanzar sus niveles. Es importante destacar que la ingesta de una dieta HFD, puede inducir a una regulación negativa del DHA, como se observa en los resultados de este estudio, debido a la obesidad, alteración de los niveles normales de colesterol y la desregulación de la biosíntesis de ácidos grasos causados por la HFD, lo que tendría consecuencias como, apoptosis de las células germinales, daño en los túbulos seminíferos y producción de espermatozoides y podrían conducir a enfermedades como la infertilidad (39).

#### **8.5. Efecto de las intervenciones en ojos de crías**

La acumulación temprana de AA y DHA durante la embriogénesis y primeras etapas postnatales es crucial para el desarrollo visual normal (11). Si bien se desconoce el papel exacto, se sabe que modula importantes funciones de la membrana, como el transporte de iones o solutos, la actividad del receptor y la actividad de la adenilato ciclasa (11). El DHA está altamente concentrado en la retina, y las reducciones en el DHA están asociadas con deterioro visual (12). Además, los ojos se destacan también por su cantidad de EPA (37). Sin embargo, el DHA es más abundante que el EPA en la retina (11), tal como se observa en los resultados de este estudio. La deficiencia de AGPI n-3 está asociada con cambios bioquímicos en la retina, incluidos la disminución del contenido de DHA y alteración de las actividades enzimáticas (11). Lo contrario sucedió en los resultados de esta investigación, ya que el grupo HFD-<1%-ALA fue el que mayor concentración de ALA y EPA presentó,

mientras que la conversión a DHA y total de n-3 fue mayor en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA. Este novedoso hallazgo requiere más estudios, pero es probable que una de las posibles explicaciones sea que el ojo, al ser un órgano vital y esencial para el desarrollo de la descendencia, provoque que la madre traspase gran parte de sus reservas para evitar la depleción en la cría. Por otra parte, AA es uno de los AG que presenta una de las concentraciones más bajas en los ojos (37), lo que se condice con los resultados obtenidos. El grupo HFD-<1%-ALA y el CD-6%-ALA convierten de manera similar el AA a partir de LA, pero la conversión del grupo CD-6%-ALA es más eficiente.

#### **8.6. Efecto de las intervenciones en tejido adiposo de crías**

En el tejido adiposo, el LA es el AG más abundante, mientras que sólo hay cantidades muy pequeñas de DHA o EPA (40), lo que se observa en los resultados de la presente investigación. Existe una capacidad de almacenamiento limitada de AGPI n-3 en el tejido adiposo que implica la necesidad de un suministro continuo a través de la dieta (40). Se ha informado previamente que el 19% del LA dietético y el 11% del ALA dietético se almacenaban en los tejidos de ratas en crecimiento y que el 60% de eso se ubicaba en la grasa visceral, siendo el tejido adiposo blanco el que contiene la mayor cantidad de precursores C18 (37). Es conocido que el destino principal del ALA administrado por vía oral es la  $\beta$ -oxidación y el almacenamiento a largo plazo en el tejido adiposo, debido a que puede representar un depósito de liberación lenta de ALA que otros tejidos como el cerebro, pueden utilizar con el tiempo (12), por lo tanto, se destaca una disminución en el transcurso de los días. Se evidencia que los niveles de LA son mayores en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA en el día 7, 21 y 29, debido a que estas aportan un mayor aporte de LA, lo que se refleja en el aumento de su acumulación y la disponibilidad de este sustrato (1).

#### **8.7. Efecto de las intervenciones en hígado de crías**

El hígado tiene un papel central en la síntesis de AGPI n-6 y n-3, siendo este tejido responsable de la mayoría de esta conversión a través de los procesos de desaturación y elongación de LA y ALA a los respectivos productos metabólicos (4). Las desaturasas y elongasas se expresan más en el hígado en comparación con el corazón o el cerebro, lo que corresponde a tasas más de 30 veces mayores de síntesis de DHA en este órgano (12,15). Los

resultados de este estudio indicaron que, aunque los grupos con ALA presentan la mayor concentración al día 29, no son necesariamente los que más incrementan la conversión a EPA y DHA, sino que son los grupos CD-6%-ALA y el HFD-<1%-ALA. El papel de  $\Delta$ -6D y  $\Delta$ -5D en este proceso está altamente regulado por hormonas, particularmente por la regulación positiva mediada por insulina de la expresión génica de las enzimas (4). Sin embargo, algunas condiciones pueden aumentar la capacidad del hígado para la síntesis de AGPI a partir de sus precursores, como la deficiencia de la ingesta dietética de AGPI n-3, donde el hígado aumenta la síntesis de DHA a través del aumento de la expresión de desaturasas o elongasas, aunque no se conoce claramente el mecanismo (12,15). De los cuatro subtipos de elongasa expresados en el hígado de ratas, elongasa-5 (elovl-5) es la transcripción de elongasa más abundante, por ende, es responsable de la elongación de los AGPI en hepatocitos (41). La expresión hepática de elovl-5 y desaturasas en ratas durante el desarrollo posnatal, está regulada a nivel pre-traducciona por los AGPI n-3 dietéticos y el agonista de PPAR- $\alpha$  (41). Además, dado el tamaño relativamente grande del hígado en comparación con los otros tejidos que examinamos, esto solo exacerbaría aún más las tasas de reacción ya más altas en el hígado (1). En relación a LA se observa que los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA predominan en los tres días de intervención, mientras que el paso a AA, no se observan diferencias significativas entre los grupos CD-6%-ALA y el HFD-<1%-ALA, tal como sucedió en EPA y DHA. Las HFD aportan una mayor cantidad de LA, lo que se refleja en el aumento de la acumulación de LA, por ende, las diferencias en las tasas de síntesis parecen depender de una mayor disponibilidad de sustrato para la síntesis de AGPI n-6, y no de una mayor capacidad de síntesis (1).

#### **8.8. Efecto de las intervenciones en cerebro de crías**

El cerebro contiene la segunda concentración más alta de lípidos totales en el cuerpo, después del tejido adiposo (8). Los principales AGPI n-6 y n-3 en el cerebro son AA y DHA (31). El AA representa del 5 al 11% de los fosfolípidos cerebrales, mientras que DHA representa entre el 13 al 22% (31). El DHA se comienza a acumular desde la embriogénesis y primeras etapas postnatales de desarrollo, debido a que es crucial para el desarrollo neurológico (11) Ambos AG participan activamente en el desarrollo del cerebro y se depositan en grandes cantidades en los lípidos de la membrana celular de la materia gris (6). Además, cumplen

funciones fundamentales en la función cerebral, como la regulación del crecimiento, diferenciación neuronal, neurogénesis, procesos de neurotransmisión, supervivencia celular y neuroinflamación (5). Las cantidades de AA y DHA en el cerebro son influenciadas por la composición de AG de la dieta (31). Joffre et al. observaron que la deficiencia de AGPI n-3 afecta al cerebro en términos de variaciones de AA y DHA (31). Por lo tanto, un mayor consumo de AGPI n-3 resultaría en una sustitución parcial de AA por EPA y DHA en las membranas celulares, mientras que una mayor ingesta de AGPI n-6 reduce los niveles de DHA y aumenta los de AA (31), hallazgo similar al encontrado en los resultados del presente estudio, donde los grupos con ALA fueron los que incrementaron la conversión a AG n-3, independiente si seguían una dieta CD o HFD, en contraste de los sin ALA, que presentaron un aumento total de la línea n-6. Lo anterior ocurre debido a que si bien muchos tejidos tienen la capacidad de sintetizar DHA frente a la falta de ingesta de AGPI n-3, la capacidad del cerebro para hacerlo se considera baja y depende de la síntesis del hígado (15). Además, la privación de AGPI n-3 en la dieta no aumenta la expresión de las desaturasas o elongasas o la tasa de síntesis de DHA como sucede en otros órganos (12). Estos hallazgos respaldan la afirmación de que el hígado exhibe la mayor capacidad para la biosíntesis de AGPI en mamíferos, mientras que el cerebro, tiene una actividad limitada (1). Una de las principales razones por las que la conversión de ALA es relativamente pobre se debe al alto porcentaje de ALA dirigido hacia la  $\beta$ -oxidación, que es aproximadamente el 67% en el cerebro, pero para otros AG, como el AA, esto es solo alrededor del 30% (11). Además, el cerebro presenta selectividad para el DHA, mientras que presenta bajos niveles de EPA y ALA, debido a que el EPA sufre una  $\beta$ -oxidación y metabolismo más rápido, pero que su absorción cerebral es similar, lo que explica la disparidad en sus concentraciones finales (37). Si bien el cerebro no es la principal fuente de DHA, tiene la capacidad de satisfacer sus necesidades diarias a través de la conversión de ALA derivado del plasma y junto con la larga vida media del DHA en el cerebro, proporciona al cerebro un grado de protección cuando la función hepática puede ser limitada o cuando la privación de n-3 está en curso (11). Respecto a AA, no se evidenciaron diferencias destacables en la adultez. Por ende, según el total de AGPI n-6 y n-3, se podría concluir que los grupos sin ALA están favoreciendo la vía n-6, mientras que los grupos con ALA privilegian la vía de n-3. Esto último podría impactar positivamente en la prevención de enfermedades debido a los efectos antiinflamatorios de los AGPI n-3 (6).

### **8.9. Efecto de las intervenciones en eritrocitos de crías**

Los eritrocitos dependen de la biosíntesis hepática de AGPI n-6 y n-3, por consiguiente, cualquier disminución en la actividad de las desaturasas del hígado tendrá una consecuencia directa en la concentración de AGPI en los eritrocitos (4). Los niveles de ALA, EPA y DHA en eritrocitos de ratones alimentados con una baja proporción de LA/ALA se correlacionaron positivamente con los niveles de ALA en los AG de la dieta (11,16). Es importante mencionar, que se han encontrado datos controvertidos y menos consistentes en relación con la conversión y acumulación de DHA a partir del ALA dietético y desafortunadamente, hay estudios limitados que abordan este punto (11). Si bien en este estudio el grupo predominante respecto a la acumulación de ALA fue el HFD-<1%-ALA, la conversión a EPA y DHA fue significativamente mayor en los grupos con ALA en el día 29. Frente a una dieta alta en grasa, los fosfolípidos de los eritrocitos muestran niveles de LA y ALA sin modificación, sin embargo, EPA y DHA se reducen significativamente con HFD (4). Lo anterior se ve reflejado particularmente en el día 29, en donde los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA presentan valores menores que el grupo CD-6%-ALA, el cual podría considerarse como un estándar. Una consecuencia directa de la dieta alta en grasa es la disminución en la actividad desaturasa del hígado, reflejándose en una reducción en la síntesis de AGPI n-6 y n-3 en eritrocitos, por tal razón, los AGPI en eritrocitos se consideran un marcador metabólico de la síntesis hepática de AGPI n-6 y n-3 a partir de sus respectivos precursores (4).

### **8.10. Efecto de las intervenciones en contenido estomacal de crías**

Poco se sabe sobre el efecto que tiene la dieta materna en la composición de la leche materna y el resultado en la descendencia (7). La acumulación de AGPI durante el período intrauterino se produce a partir de fuentes maternas y postnatales como la leche materna (11). Los lípidos constituyen la segunda fracción más grande de la leche materna, proporcionando al recién nacido energía, vitaminas liposolubles y AGPI (7). La leche materna activa transcripciones reguladas por el agonista de PPAR- $\alpha$ , aumentando rápidamente los ARNm de desaturasas después del nacimiento, lo que sugiere que PPAR- $\alpha$  y la leche materna contribuyen al aumento postnatal del ARNm de *elovl-5* y desaturasas, por tanto, contribuyen a mantener niveles constantes de AA y DHA hepáticos (41). La dieta de la madre influye sustancialmente en la composición de AG en la leche materna, especialmente en los AGPI como el LA y ALA

(7). Esto se refleja en el grupo HFD-<1%-ALA, ya que es el grupo que menos acumula ALA. El contenido de DHA en la leche materna depende de la ingesta de la madre y las concentraciones eritrocitarias de DHA en los lactantes responden a las cantidades de DHA de la leche, cuya composición está correlacionada con el estado de AGPI n-3 materno (40). Sin embargo, otros factores como las reservas corporales internas, el metabolismo de los AG o la alta variabilidad entre camadas, podrían contribuir a desdibujar su asociación directa con la dieta (7). Los grupos con ALA son los que presentan la mayor conversión a EPA y DHA, lo que se relaciona con el traspaso materno de estos AG (1). Por otra parte, la acumulación de LA y el total n-6 es predominante en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA, debido a un mayor aporte de LA, lo que se refleja en el aumento de su acumulación y en una mayor disponibilidad de sustrato para la síntesis de AGPI n-6 (1).

#### **8.11. Efecto de las intervenciones en intestino de crías**

La información respecto a la acumulación de AG en este órgano es limitada. Un estudio del año 2015 concluyó que el intestino tiene una mayor acumulación de AGPI n-6 en comparación con n-3, siendo el más predominante el AA, seguido de LA (37). Además, este órgano presentó una de las mayores proporciones n-6/n-3 (37). En este estudio se evidencia lo anterior, ya que LA y AA son los AG predominantes, por sobre los de la línea n-3. La conversión a EPA y DHA fue menor en el grupo HFD-<1%-ALA ( $p<0,05$ ), lo que indica que, a pesar de acumular ALA de manera similar al grupo CD-6%-ALA, no es eficiente al convertir los AGPI n-3. Esto se debe a que el LA y ALA compiten por las mismas enzimas desaturasas y elongasas, lo que significa que su tasa de conversión a AA y DHA depende de las cantidades relativas consumidas (8). Por tanto, las diferencias en las tasas de síntesis parecen depender de una mayor disponibilidad de sustrato (1). La conversión a AA a partir de LA también es baja en el día 29, ya que una consecuencia directa de la dieta alta en grasa es la disminución en la actividad desaturasa del hígado, reflejándose en una reducción en la síntesis de AGPI n-6 y n-3 (4).

#### **8.12. Efecto de las intervenciones en músculo de crías**

El músculo, es un órgano que presenta la mayor acumulación de AGPI como AA y DHA, mientras que los precursores C18 se depositan principalmente en el tejido adiposo blanco,

seguido por la piel y, en tercer lugar, el músculo (37), lo cual se evidencia en la presente investigación. El músculo esquelético absorbe consistentemente todos los AG n-3, pero no convierte eficientemente el ALA en EPA (3). Se sugiere que este tejido presenta metabolismo preferencial de EPA para producir eicosanoides con efectos antiinflamatorios (como prostaglandina o resolvína E1) debido a su alta actividad metabólica (3). Por lo tanto, el metabolismo de los AG n-3 parece ser específico en este tejido (3). Además, se ha sugerido que la acumulación de los AG n-3 en el músculo esquelético puede explicar su papel crucial en la reducción de la grasa abdominal, la inflamación, la dislipidemia y la resistencia a la insulina (42). El consumo de ALA induce una redistribución comparativamente diferente de los AG del músculo esquelético (42), lo que se observa en las concentraciones de ALA, EPA y DHA, ya que los grupos con ALA son los que presentan la mayor distribución de estos AGPI n-3. La acumulación de LA, es mayor en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA debido a un mayor aporte de LA, lo que se refleja en el aumento de su acumulación (1). Mientras tanto, la bioconversión a AA es predominante en los grupos sin ALA debido a que estas dietas aportan una mayor cantidad de LA (8).

### **8.13. Efecto de las intervenciones en pulmón de crías**

El pulmón es un órgano que no muestra concentración proteica ni actividad de desaturasas ( $\Delta$ -6D y  $\Delta$ -5D) y elongasas (elov12 y elov15), por lo tanto, el hígado sería el responsable de la biosíntesis de AGPI (1). A pesar de que la acumulación de ALA es mayor en el grupo HFD-6%-ALA la conversión a EPA y DHA es mayor en los grupos con ALA, siendo el grupo CD-6%-ALA, el más eficiente. En cuanto a LA, los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA presentan la mayor acumulación de este AG debido a un mayor aporte de LA, lo que se refleja en el total de n-6, en el aumento de su acumulación y en una mayor disponibilidad de sustrato para la síntesis de AGPI n-6 (1). Los niveles de AA en el día 29 fueron mayores en los grupos sin ALA debido a que estas dietas aportan una mayor cantidad de LA. Es importante destacar que el LA y ALA compiten por las mismas enzimas desaturasas y elongasas (8), lo que resultaría en un aumento en los niveles de AA, así como una reducción en el contenido de AGPI n-3 (ALA y especialmente EPA o DHA) en sangre (1).

#### **8.14. Efecto de las intervenciones en hígado de madres**

La movilización de lípidos de los tejidos maternos durante el embarazo y la lactancia proporciona un suministro constante de AG (36). A pesar de su papel central en el apoyo a las demandas de la reproducción, el conocimiento de cómo cambia el manejo de lípidos por parte del hígado en respuesta a la reproducción es limitado (43). Así, los AGPI acumulados en los tejidos maternos a lo largo del tiempo se movilizan para garantizar un suministro estable al feto y al neonato durante el desarrollo, independientemente de la ingesta dietética durante el embarazo (36). Para satisfacer la demanda de la descendencia, las hembras pueden alterar su dieta para incluir más lípidos o almacenar lípidos como tejido adiposo para su posterior movilización, garantizando que haya suficientes lípidos disponibles para transferir a la descendencia a través de la placenta o la leche materna (43). Además, el hígado desempeña un papel vital en este proceso porque es responsable de la degradación, modificación y síntesis de lípidos (43). Esto lo convierte en un elemento esencial en la síntesis de *novo* en el organismo materno, debido al aumento de síntesis de  $\Delta 6$ -D y  $\Delta 5$ -D, genes involucrados en la síntesis de AGPI (44). Durante el embarazo y la lactancia, las adaptaciones metabólicas implican cambios en la expresión de desaturasas y elongasas en el hígado para la síntesis de AGPI en respuesta a la alta demanda del feto y del recién nacido (44). Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que el hígado de la madre puede poseer diferentes puntos de control a lo largo del embarazo y la lactancia (44). Se ha descrito la existencia de una correlación positiva entre la metilación del promotor  $\Delta 6$ -D en los hígados maternos y de las crías causada por la disponibilidad materna de ALA durante la gestación y lactancia, por ende, esto podría alterar de manera diferencial el metabolismo de los AG n-6 y n-3 (42).

#### **8.15. Efecto de las intervenciones en eritrocitos de madres**

Dado que la expresión de elongasas y desaturasas es baja en el hígado fetal, el alto contenido tisular de AA y DHA se deriva de la sangre materna (41). Luego del nacimiento, la acumulación de AGPI durante el período postnatal se produce a partir de fuentes como la leche materna (11) y las concentraciones de n-3 en los eritrocitos de la cría están correlacionadas con el estado de AGPI n-3 materno (40). En la madre, la biosíntesis hepática de AGPI n-6 y n-3 es crucial para mantener los niveles adecuados en los eritrocitos (4). La disminución constante de DHA en los eritrocitos de la madre durante la lactancia sugiere que

el DHA pasa al bebé a través de la leche (45). Este proceso, llamado “biomagnificación de DHA posnatal”, ocurre a expensas de la madre y coincide con una acumulación más rápida de DHA en el cerebro del bebé, destacando su importancia para el desarrollo neurológico y de la retina después del parto (45). Los niveles de EPA y DHA son evidentemente mayores en los grupos con ALA, similar a lo observado en contenido estomacal y eritrocitos de las crías, que mostraron una tendencia al alza en el día 7. Por otro lado, una alta ingesta de LA podría influir tanto en la actividad de las enzimas desaturasas como en los niveles de AGPI en sangre (1). En cuanto a LA, se observó que los grupos que recibieron HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA presentan la mayor concentración, al igual que en contenido estomacal. Similar a lo observado en tejidos anteriores, el aumento en la absorción de LA se produce por un aumento en su disponibilidad (8), no aumenta la biosíntesis a AA en ninguno de los grupos. Sin embargo, cabe mencionar que el grupo CD-6%-ALA es el que presenta la conversión a AA de manera más eficiente.

#### **8.16. Efecto de las intervenciones en tejido adiposo de madres**

En respuesta a las altas demandas de lípidos durante el embarazo y la lactancia, se desencadenan adaptaciones metabólicas que producen un aumento del almacenamiento de grasa en el tejido adiposo desde el inicio del embarazo (44). Para esto, las hembras pueden alterar su dieta para incluir más lípidos, almacenar lípidos como tejido adiposo para su posterior movilización y alterar sus patrones de uso y manejo de lípidos para garantizar que haya suficientes lípidos disponibles para transferir a la descendencia a través de la placenta o en la leche (43). La evidencia sugiere que los AGPI se movilizan desde el tejido adiposo materno para satisfacer la acumulación fetal y posteriormente para apoyar la lactancia (36). A pesar de que este tejido expresa genes que codifican las enzimas implicadas en la síntesis de AGPI, no sintetiza activamente  $\Delta 6$ -D y  $\Delta 5$ -D, por ende, el tejido adiposo podría servir más que nada como reservorio (44). A pesar de lo anterior, se ha observado una mayor expresión de elongasas en el tejido adiposo durante la primera mitad de la lactancia, por lo que es posible que el tejido adiposo sustente al hígado y la glándula mamaria durante esta etapa fisiológica de la síntesis de AGPI (44). La capacidad de transporte de lípidos estaría elevada durante la gestación y la lactancia, facilitando la deposición de tejido adiposo en las hembras gestantes y asegurando que los lípidos necesarios para el desarrollo fetal y el

crecimiento posnatal se transporten a la placenta y las glándulas mamarias, respectivamente (43). Los AGPI se pueden adquirir a través de la movilización a partir de las reservas de tejido adiposo, por síntesis de *novo* en el organismo materno o a través de la dieta (44). Por lo mismo, en los resultados del presente estudio, la bioconversión a DHA es mayor en los grupos con ALA, mientras que la acumulación de LA fue mayor en los grupos HFD-<1%-ALA y HFD-6%-ALA debido a que el incremento en la absorción de LA se produce por un aumento en su disponibilidad (8). Sin embargo, en este caso no se observó un aumento en la biosíntesis de AA en ninguno de los grupos, probablemente debido a la competencia enzimática con LA. Como resultado, los niveles de DHA aumentan, pero no los de AA.

## 9. CONCLUSIONES

Este estudio es uno de los pocos que describe los perfiles de distribución de AGPI en diferentes tejidos y días de intervención en crías y madres. Los hallazgos respaldan la afirmación de que el hígado tiene la mayor capacidad para la biosíntesis de AGPI en ratas, mientras que los tejidos extrahepáticos muestran una actividad limitada. Como se mencionó anteriormente, la acumulación de AGPI n-3 varía según el tejido, lo que indica que la conversión de ALA es selectiva para cada uno.

Por otro lado, las reservas maternas se convierten en una fuente importante de transferencia de AGPI n-3 a las crías en respuesta a estresores como el tipo de dieta, probablemente porque la madre traspasa gran parte de sus reservas a la cría. Esto explica por qué en algunos tejidos la deficiencia de ALA o una HFD no afectó la acumulación de AGPI como EPA y DHA. Para poder aclarar lo anterior, se sugiere que futuros estudios utilicen ALA marcado para determinar con mayor precisión el uso de estos AGPI, debido a que el almacenamiento no es la única vía de metabolismo del ALA, ya que también puede ser usado para  $\beta$ -oxidación o en sustratos para la síntesis de docosanoides.

Continuar investigando en esta área es esencial, dado que la mayoría de los estudios publicados se han centrado en tejido hepático y cerebral, mientras que el conocimiento sobre otros tejidos es limitado. Esto es crucial para comprender en profundidad cómo las reservas maternas responden a estresores como la dieta y cómo las crías pueden mantener niveles estables de AGPI ante la deficiencia de ALA o una HFD.

## 10. REFERENCIAS

1. Valenzuela R, Metherel AH, Cisbani G, Smith ME, Chouinard-Watkins R, Klievik BJ, et al. Protein concentrations and activities of fatty acid desaturase and elongase enzymes in liver, brain, testicle, and kidney from mice: Substrate dependency. *BioFactors*. 2024 Jan 1;50(1):89–100.
2. Poudyal H, Panchal SK, Ward LC, Brown L. Effects of ALA, EPA and DHA in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2013 Jun;24(6):1041–52.
3. Saini RK, Keum Y soo. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids : Dietary sources, metabolism, and significance — A review. *Life Sci*. 2018;203:255–67.
4. Valenzuela R, Echeverria F, Ortiz M, Rincón-Cervera MÁ, Espinosa A, Hernandez-Rodas MC, et al. Hydroxytyrosol prevents reduction in liver activity of  $\Delta$ -5 and  $\Delta$ -6 desaturases, oxidative stress, and depletion in long chain polyunsaturated fatty acid content in different tissues of high-fat diet fed mice. *Lipids Health Dis*. 2017 Apr 11;16(1).
5. Bazinet RP, Layé S. Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. *Nat Rev Neurosci*. 2014;15(12):771–85.
6. Videla LA, Hernandez-Rodas MC, Metherel AH, Valenzuela R. Influence of the nutritional status and oxidative stress in the desaturation and elongation of n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids: Impact on non-alcoholic fatty liver disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2022;181(102441).
7. Azagra-Boronat I, Tres A, Massot-Cladera M, Franch À, Castell M, Guardiola F, et al. Associations of breast milk microbiota, immune factors, and fatty acids in the rat mother–offspring pair. *Nutrients*. 2020 Feb 1;12(2).
8. Horman T, Fernandes MF, Tache MC, Hucik B, Mutch DM, Leri F. Dietary N-6/N-3 ratio influences brain fatty acid composition in adult rats. *Nutrients*. 2020 Jun 1;12(6):1–10.
9. Kaur N, Chugh V, Gupta AK. Essential fatty acids as functional components of foods—a review. *J Food Sci Technol*. 2014;51(10):2289–303.
10. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Fundación Iberoamericana de Nutrición (FINUT). Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Consulta de expertos. Estudio FAO alimentación y nutrición. 2012. 1–204 p.

11. Barceló-Coblijn G, Murphy EJ. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Prog Lipid Res.* 2009;48(6):355–74.
12. Domenichiello AF, Kitson AP, Bazinet RP. Is docosahexaenoic acid synthesis from  $\alpha$ -linolenic acid sufficient to supply the adult brain? Vol. 59, *Progress in Lipid Research.* Elsevier Ltd; 2015. p. 54–66.
13. Gregory MK, Cleland LG, James MJ. Molecular basis for differential elongation of omega-3 docosapentaenoic acid by the rat Elovl5 and Elovl2. *J Lipid Res.* 2013 Oct;54(10):2851–7.
14. Domenichiello AF, Chen CT, Trepanier MO, Mark Stavro P, Bazinet RP. Whole body synthesis rates of DHA from  $\alpha$ -linolenic acid are greater than brain DHA accretion and uptake rates in adult rats. *J Lipid Res.* 2014 Jan;55(1):62–74.
15. Metherel AH, Valenzuela R, Klievik BJ, Cisbani G, Rotarescu RD, Gonzalez-Soto M, et al. Dietary docosahexaenoic acid (DHA) downregulates liver DHA synthesis by inhibiting eicosapentaenoic acid elongation. *J Lipid Res.* 2024 Jun;65(6):100548.
16. Wang Q, Wang X. The Effects of a Low Linoleic Acid/ $\alpha$ -Linolenic Acid Ratio on Lipid Metabolism and Endogenous Fatty Acid Distribution in Obese Mice. *Int J Mol Sci.* 2023 Aug 1;24(15).
17. Aparicio E, Martín-Grau C, Bedmar C, Orus NS, Basora J, Arija V. Maternal factors associated with levels of fatty acids, specifically n-3 pufo during pregnancy: Eclipses study. *Nutrients.* 2021;13(2):1–19.
18. Shrestha N, Sleep SL, Cuffe JSM, Holland OJ, Perkins A V., Yau SY, et al. Role of omega-6 and omega-3 fatty acids in fetal programming. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2020;47(5):907–15.
19. Coletta JM, Bell SJ, Roman AS. Omega-3 Fatty Acids and Pregnancy. *Rev Obstet Gynecol.* 2010;3(4):163–71.
20. Lauritzen L, Carlson SE. Maternal fatty acid status during pregnancy and lactation and relation to newborn and infant status. *Matern Child Nutr.* 2011;7(SUPPL. 2):41–58.
21. Demmelmair H, Koletzko B. Importance of fatty acids in the perinatal period. *World Rev Nutr Diet.* 2015;112:31–47.
22. Larqué E, Demmelmair H, Gil-Sánchez A, Prieto-Sánchez MT, Blanco JE, Pagán A, et al. Placental transfer of fatty acids and fetal implications. *American Journal of Clinical Nutrition.* 2011;94(6):1908–13.

23. Herrera E, Ortega-Senovilla H. Implications of Lipids in Neonatal Body Weight and Fat Mass in Gestational Diabetic Mothers and Non-Diabetic Controls. *Curr Diab Rep.* 2018;18(2).
24. Haggarty P. Fatty acid supply to the human fetus. Vol. 30, *Annual Review of Nutrition.* 2010. p. 237–55.
25. Campoy C, Chisaguano Tonato AM, de la Garza Puentes A, Sáenz de Pipaón M, Verduci E, Koletzko B, et al. Controversia actual sobre el papel crítico de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, araquidónico (ARA) y docosahexaenoico (DHA), en el lactante. *Nutr Hosp.* 2021;38(5):1101–12.
26. Muhlhausler BS, Ailhaud GP. Omega-6 polyunsaturated fatty acids and the early origins of obesity. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2013;20(1):56–61.
27. Bernard JY, De Agostini M, Forhan A, de Lauzon-Guillain B, Charles MA, Heude B, et al. The dietary n6:n3 fatty acid ratio during pregnancy is inversely associated with child neurodevelopment in the EDEN mother-child cohort. *Journal of Nutrition* [Internet]. 2013;143(9):1481–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.3945/jn.113.178640>
28. Gibson RA, Muhlhausler B, Makrides M. Conversion of linoleic acid and alpha-linolenic acid to long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFAs), with a focus on pregnancy, lactation and the first 2 years of life. *Matern Child Nutr.* 2011;7(SUPPL. 2):17–26.
29. Benaim C, Freitas-Vilela AA, Pinto T de JP, Lepsch J, Farias DR, dos Santos Vaz J, et al. Early pregnancy body mass index modifies the association of pre-pregnancy dietary patterns with serum polyunsaturated fatty acid concentrations throughout pregnancy in Brazilian women. *Matern Child Nutr.* 2018;14(1).
30. Álvarez D, Muñoz Y, Ortiz M, Maliqueo M, Chouinard-Watkins R, Valenzuela R. Impact of maternal obesity on the metabolism and bioavailability of polyunsaturated fatty acids during pregnancy and breastfeeding. *Nutrients.* 2021;13(1):1–24.
31. Joffre C, Grégoire S, De Smedt V, Acar N, Bretillon L, Nadjar A, et al. Modulation of brain PUFA content in different experimental models of mice. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2016 Nov 1;114:1–10.
32. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol.* 1959;37(8).
33. Morrison WR, Smith LM. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J Lipid Res.* 1964;5(4):600–8.

34. Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, Fairus A, Ima-Nirwana S. Animal models of metabolic syndrome: a review. Vol. 13, Nutrition and Metabolism. BioMed Central Ltd.; 2016. p. 1–12.
35. Igarashi M, Ma K, Chang L, Bell JM, Rapoport SI. Rat heart cannot synthesize docosahexaenoic acid from circulating  $\alpha$ -linolenic acid because it lacks elongase-2. *J Lipid Res.* 2008 Aug;49(8):1735–45.
36. Lamontagne-Kam DM, Chalil A, Aristizabal Henao JJ, Hogenhout SJ, Stark KD. Concentrations of docosahexaenoic acid are reduced in maternal liver, adipose, and heart in rats fed high-fat diets without docosahexaenoic acid throughout pregnancy. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2018 Nov 1;138:30–7.
37. Salem NM, Lin YH, Moriguchi T, Lim SY, Salem N, Hibbeln JR, et al. Distribution of Omega-6 and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in the Whole Rat Body and 25 Compartments HHS Public Access. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2015;100:13–20.
38. Li XJ, Suo P, Wang YN, Zou L, Nie XL, Zhao YY, et al. Arachidonic acid metabolism as a therapeutic target in AKI-to-CKD transition. Vol. 15, *Frontiers in Pharmacology.* Frontiers Media SA; 2024.
39. Bunay J, Gallardo LM, Torres-Fuentes J, Aguirre-Arias M, Orellana R, Sepulveda N, et al. A decrease of docosahexaenoic acid in testes of mice fed a high-fat diet is associated with impaired sperm acrosome reaction and fertility. *Asian J Androl.* 2021 May 1;23(3):306–13.
40. Arterburn LM, Hall EB, Oken H. Distribution, interconversion, and dose response of n3 fatty acids in humans 1-4. 2006.
41. Wang Y, Botolin D, Christian B, Busik J, Xu J, Jump DB. Tissue-specific, nutritional, and developmental regulation of rat fatty acid elongases [Internet]. Vol. 46, *J Lipid Res.* 2005. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bi2seq/bl2.html>
42. Leikin-Frenkel AI. Is there a role for alpha-linolenic acid in the fetal programming of health? Vol. 5, *Journal of Clinical Medicine.* MDPI; 2016.
43. Zhang Y, Kallenberg C, Hyatt HW, Kavazis AN, Hood WR. Change in the lipid transport capacity of the liver and blood during reproduction in rats. *Front Physiol.* 2017 Jul 26;8(JUL).
44. González RS, Rodriguez-Cruz M, Maldonado J, Saavedra FJ. Role of maternal tissue in the synthesis of polyunsaturated fatty acids in response to a lipid-deficient diet during pregnancy and lactation in rats. *Gene.* 2014 Oct 1;549(1):7–23.

45. Luxwolda MF, Kuipers RS, Sango WS, Kwesigabo G, Dijck-Brouwer DAJ, Muskiet FAJ. A maternal erythrocyte DHA content of approximately 6 g% is the DHA status at which intrauterine DHA biomagnifications turns into bioattenuation and postnatal infant DHA equilibrium is reached. *Eur J Nutr.* 2012 Sep;51(6):665–75.

## 11. ANEXOS

### Anexo 1. Ruta metabólica de la síntesis de AGPI n-6 y n-3

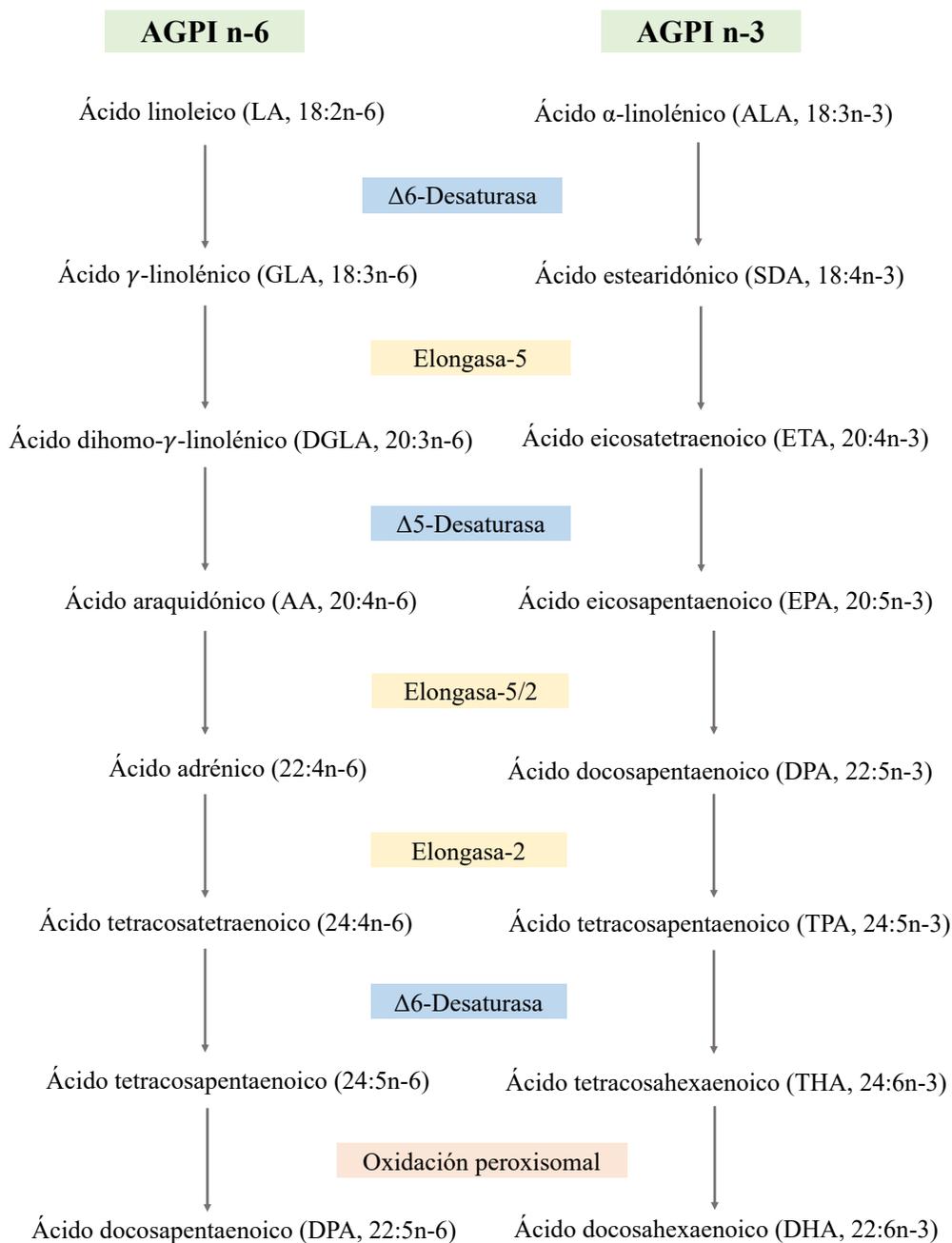


FIGURA. Ruta metabólica de la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) n-6 y n-3.

## Anexo 2. Protocolo de intervención

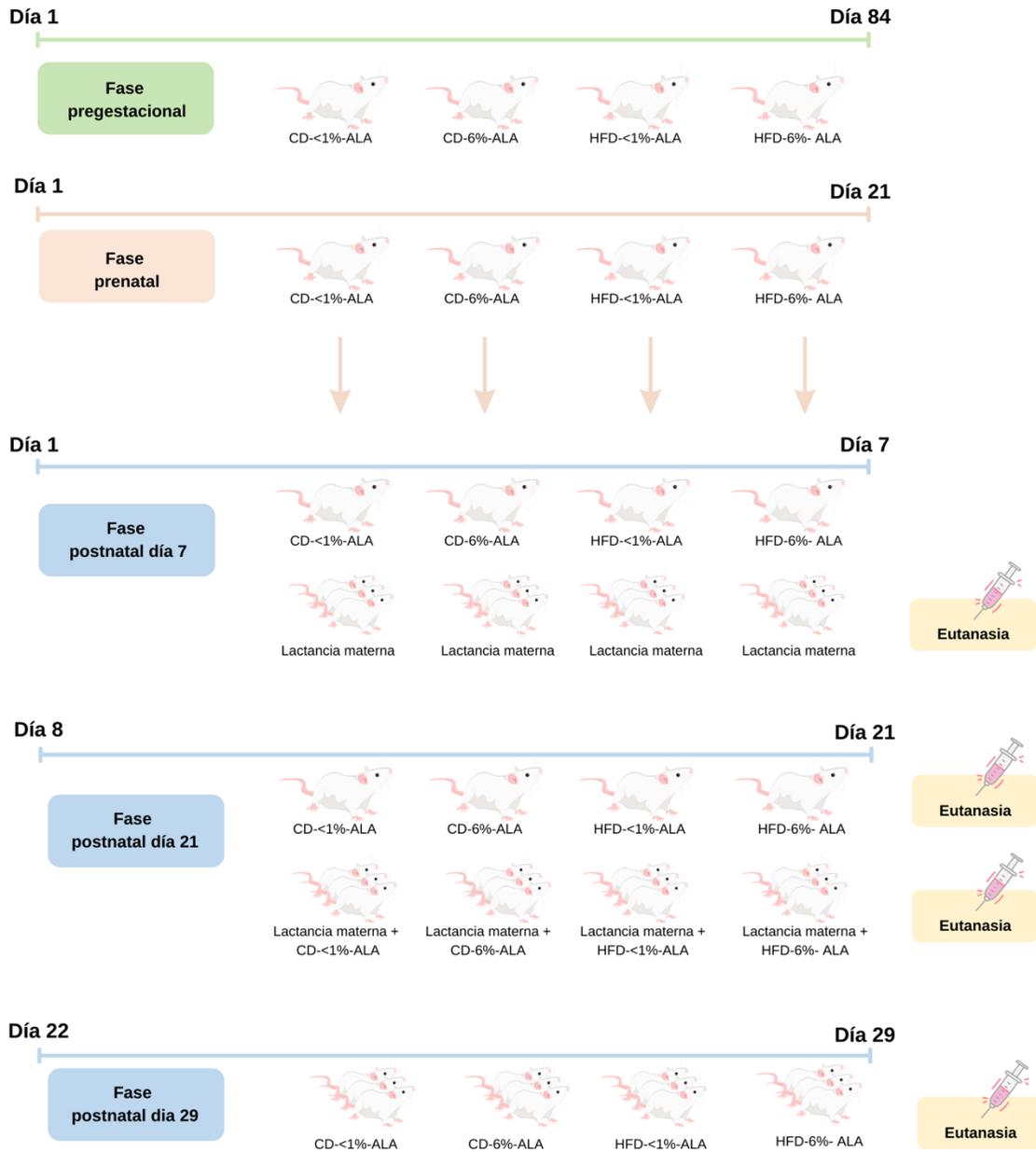


FIGURA. Protocolo de intervención del proyecto.

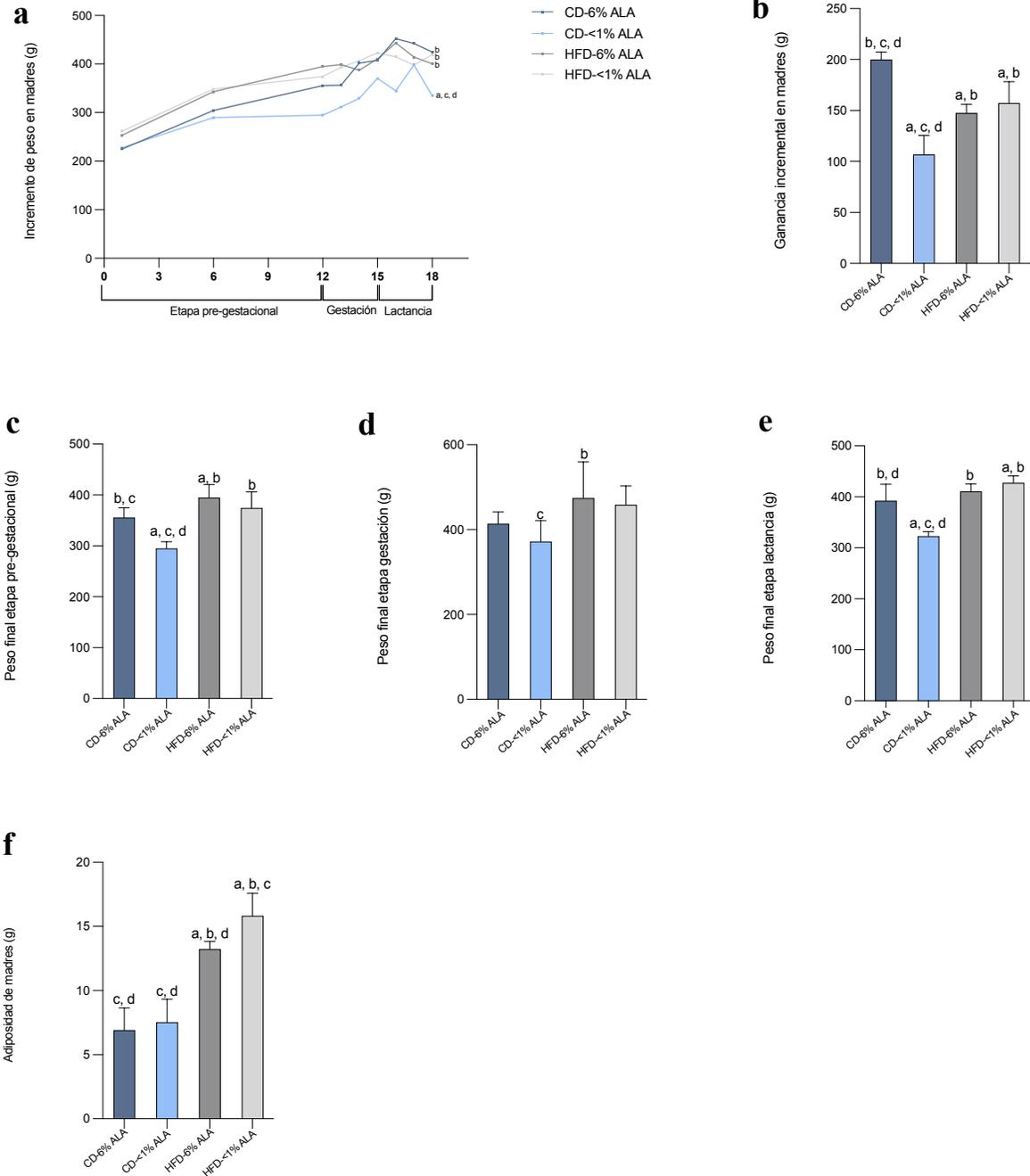
### Anexo 3. Información nutricional de las dietas experimentales

	CD-<1%-ALA		CD-6%-ALA		HFD-<1%-ALA		HFD-6%-ALA	
Macronutrientes	% g totales	% kcal totales						
Proteína	19	20	19	20	26	20	26	20
Carbohidratos	67	70	67	70	26	20	26	20
Lípidos	4	10	4	10	35	60	35	60
Ingredientes	g	kcal	g	kcal	g	kcal	g	kcal
Caseína	200	800	200	800	200	800	200	800
L-Cistina	3	12	3	12	3	12	3	12
Maicena	507.2	2024.8	506.2	2024.8	0	0	0	0
Maltodextrina	125	500	125	500	125	500	125	500
Sacarosa	68.8	275.2	68.8	275.2	68.8	275.2	68.8	275.2
Celulosa	50	0	50	0	50	0	50	0
Aceite de coco	10	90	10	90	100	900	100	900
Aceite de linaza	0	0	4	36	0	0	27.8	250
DHASCO	0	0	0	0	0	0	0	0
Aceite de soya	0	0	6	54	0	0	0	0
Aceite de cártamo	12.4	111.6	5	45	91.6	824	66.4	598
Aceite de girasol	15	135	15	135	78.4	706	75.8	682
Manteca de cerdo	7.6	68.4	5	45	0	0	0	0
Terbutilhidroquinona	0	0	0	0	0	0	0	0
Mezcla de minerales	10	0	10	0	10	0	10	0
Fosfato dicálcico	13	0	13	0	13	0	13	0
Carbonato de calcio	5.5	0	5.5	0	5.5	0	5.5	0
Citrato de potasio	16.5	0	16.5	0	16.5	0	16.5	0
Mezcla de vitaminas	10	40	10	40	10	40	10	40
Bitartrato de colina	2	0	2	0	2	0	2	0
Tartrazina	0	0	0.05	0	0.1	0	0	0
Rojo allura AC	0	0	0	0	0	0	0.1	0
Azul brillante FCF	0	0	0.05	0	0	0	0	0
Total	1055	4057	1055.1	4057	773.9	4057	773.9	4057
Composición lipídica								
Ácido linoleico (% de grasa total)		28.3		22.3		28.8		23.1
Ácido linoleico (g/kg dieta)		12.1		9.5		100.5		80.5

Ácido $\alpha$ -linolénico (% de grasa total)		0.3		6.1		0.1		5.7
Ácido $\alpha$ -linolénico (g/kg dieta)		0.1		2.6		0.3		20.0
DHA (% de grasa total)		0.0		0.0		0.0		0
DHA (g/kg dieta)		0.0		0.0		0.0		0
AG saturados (%)		32.6		32.1		41.9		41.9
AG monoinsaturados (%)		38.0		38.8		28.9		28.9
AG poliinsaturados (%)		29.4		29.1		29.2		29.2
n-6		12.7		10.0		77.8		62.3
n-3		0.1		2.7		0.2		15.5
Relación n-6:n-3		90.1		3.7		365.0		4.0

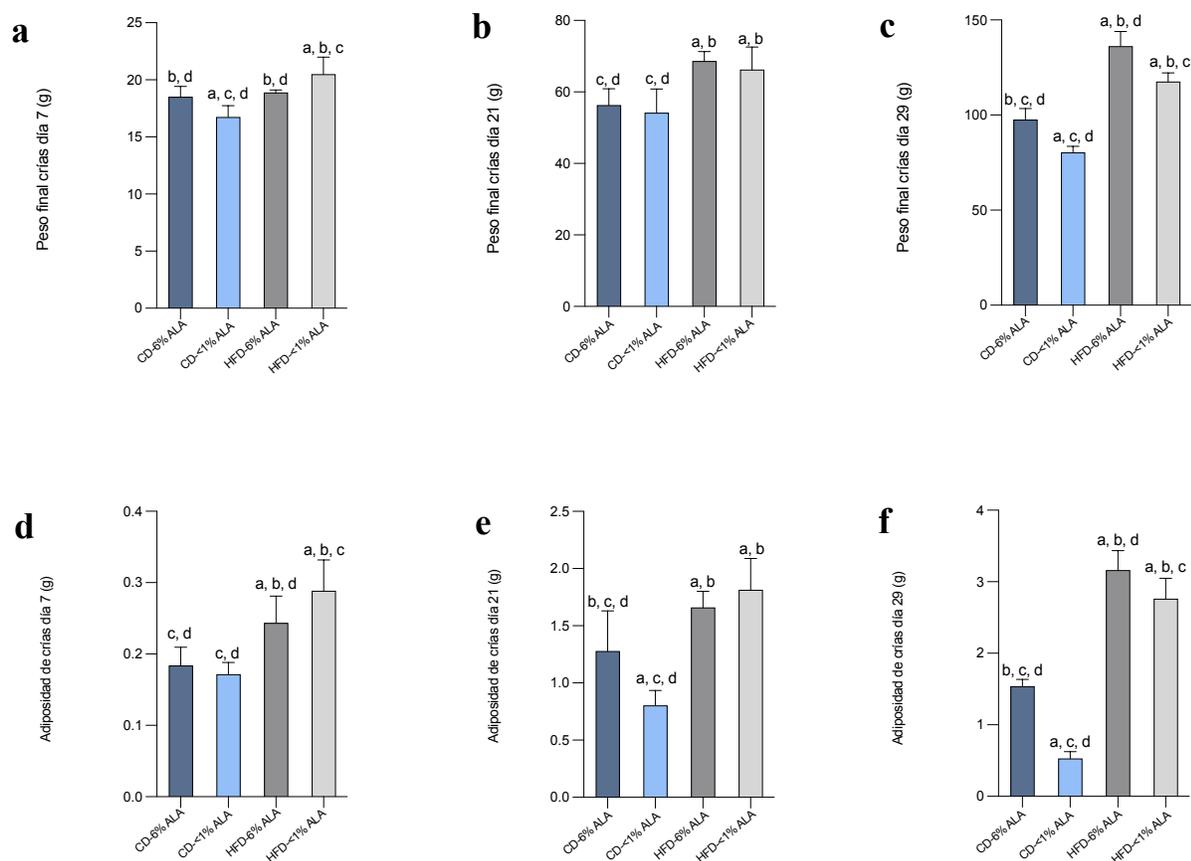
**TABLA.** Aporte nutricional y composición de las dietas. Fuente: Etiquetado nutricional del producto.

## Anexo 4. Peso y adiposidad materna



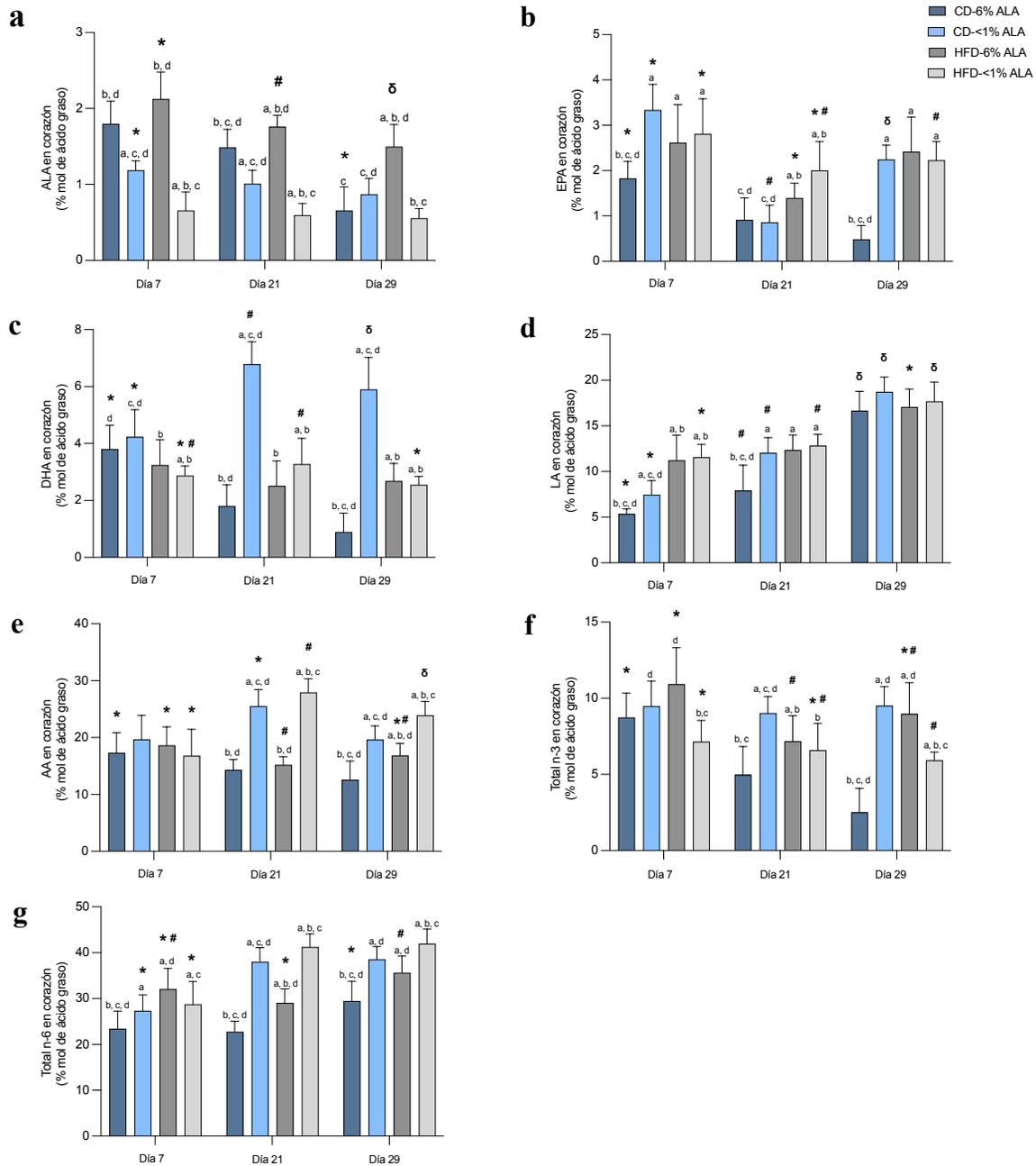
**FIGURA.** Peso y adiposidad materna. (a) Incremento de peso corporal desde etapa pre-gestacional hasta lactancia (b) Ganancia incremental (c) Peso al final de la etapa pre-gestacional (d) Peso al final de la etapa de cruce y gestación (e) Peso al final de la etapa de la lactancia (f) Adiposidad. Datos presentados como media y desviación estándar. n=6. Análisis estadístico: i) ANOVA de una vía seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras diferentes en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 5. Peso y adiposidad de las crías



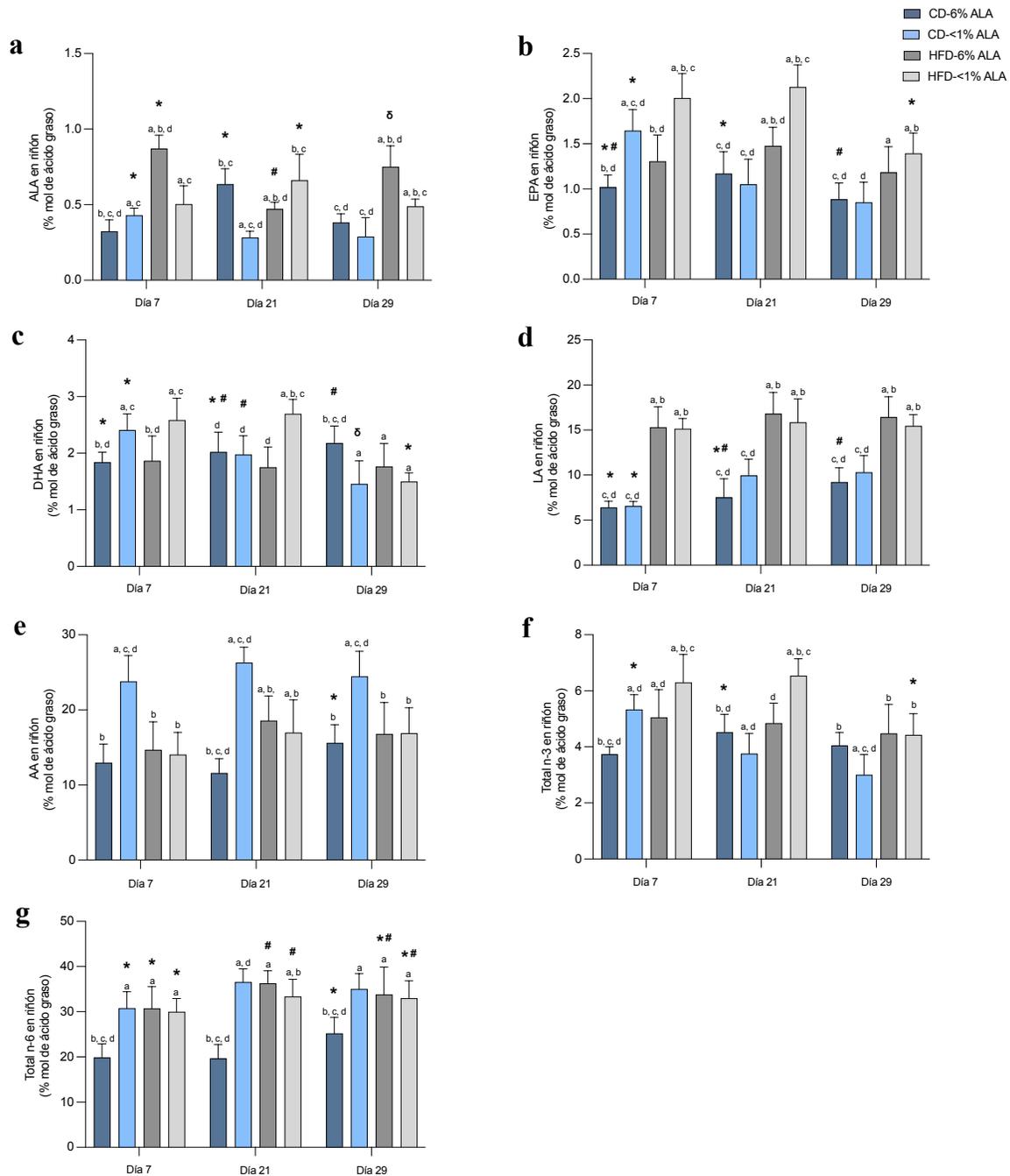
**FIGURA.** Peso y adiposidad de las crías. (a) Peso final día 7 (b) Peso final día 21 (c) Peso final día 29 (d) Adiposidad día 7 (e) Adiposidad día 21 (f) Adiposidad día 29. Datos presentados como media y desviación estándar. n=6. Análisis estadístico: i) ANOVA de una vía seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras diferentes en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 6. Composición de AG en corazón de crías



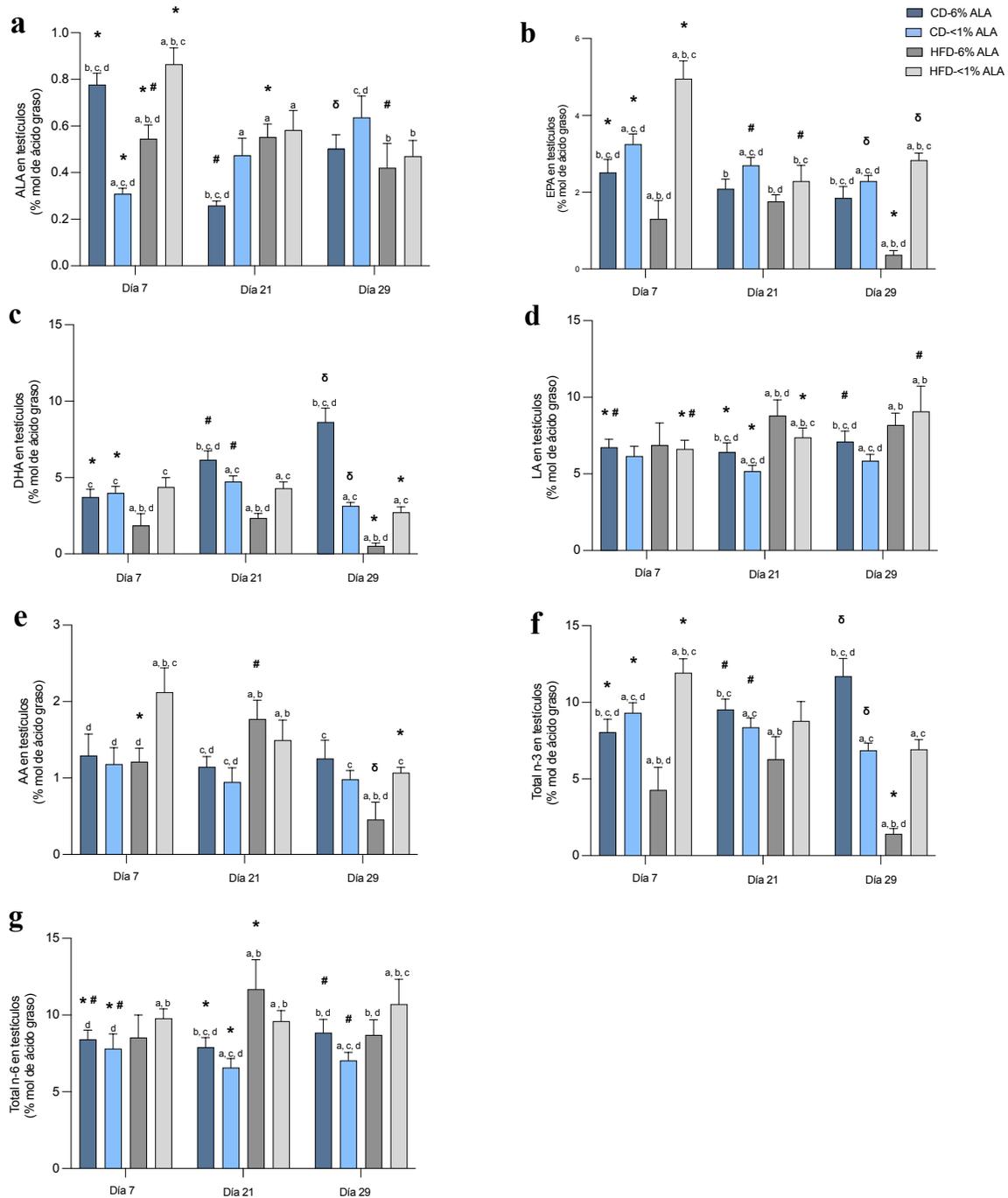
**FIGURA.** % de AG en corazón de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=12 machos + hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre cada día ( $p < 0.05$ ), mientras que los símbolos, indican las diferencias significativas entre cada grupo ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 7. Composición de AG en riñón de crías



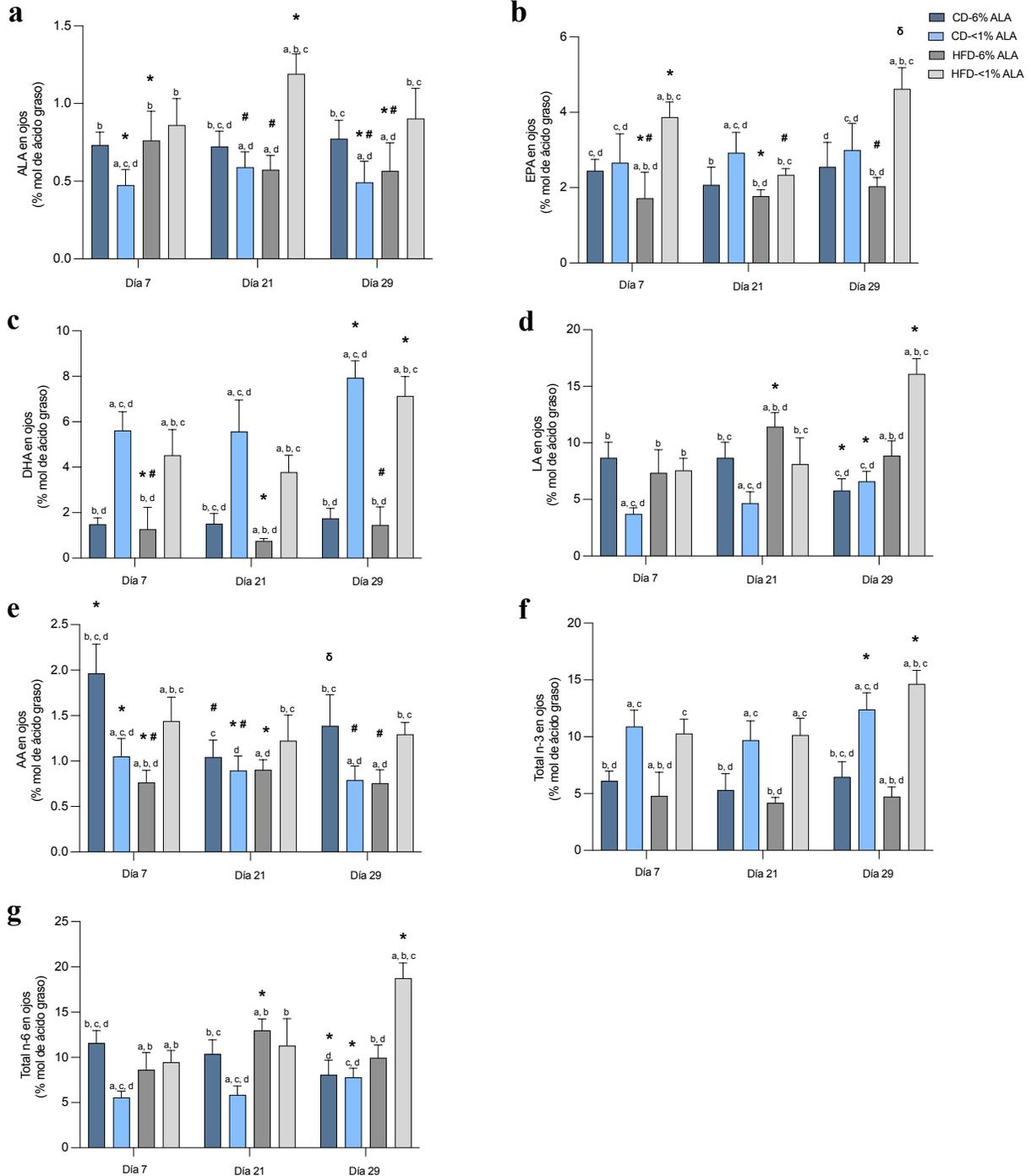
**FIGURA.** % de AG en riñón de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=12 machos + hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre cada día ( $p < 0.05$ ), mientras que los símbolos, indican las diferencias significativas entre cada grupo ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 8. Composición de AG en testículos de crías



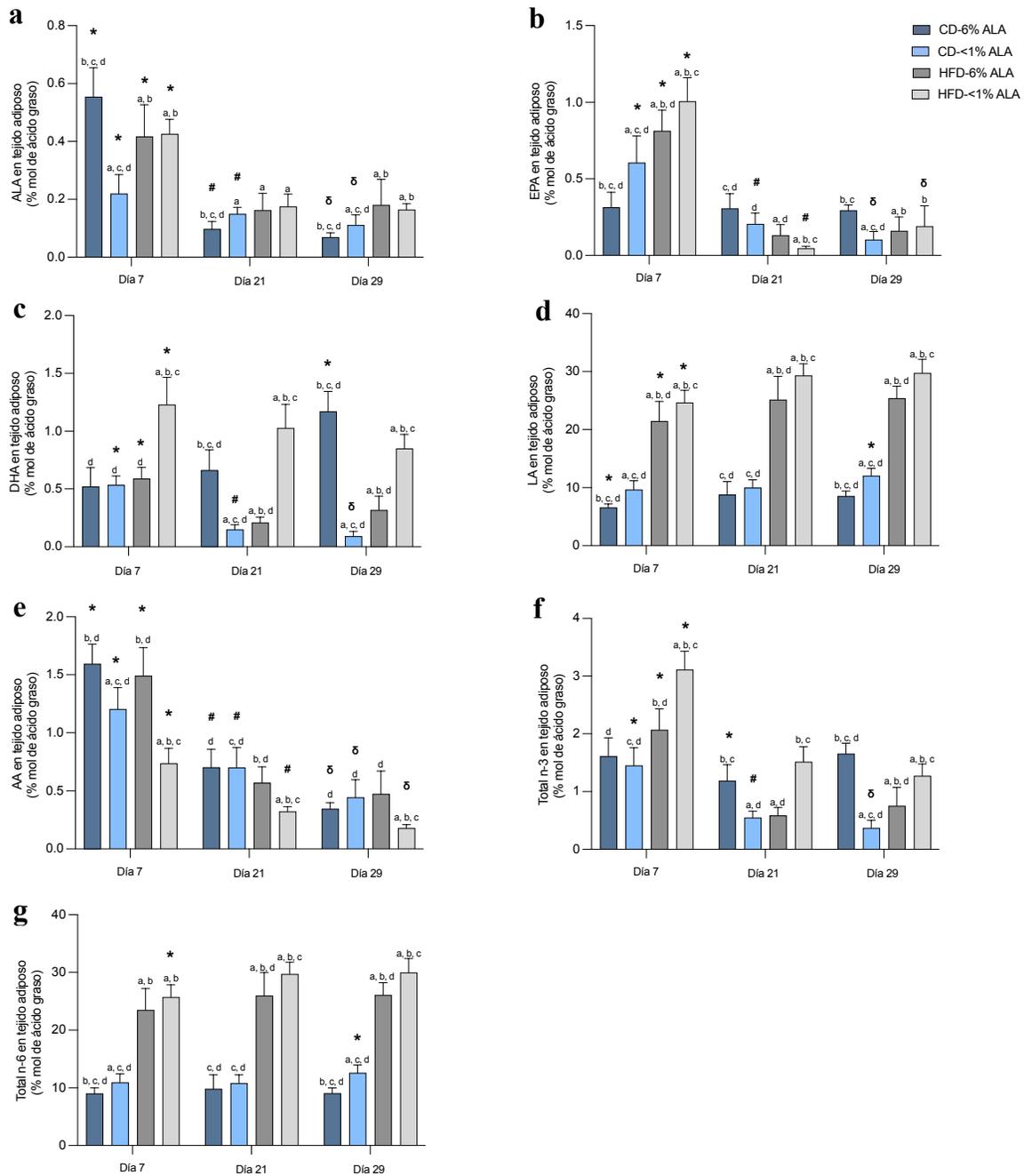
**FIGURA.** % de AG en testículos de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=6 machos. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre cada día ( $p < 0.05$ ), mientras que los símbolos, indican las diferencias significativas entre cada grupo ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 9. Composición de AG en ojos de crías



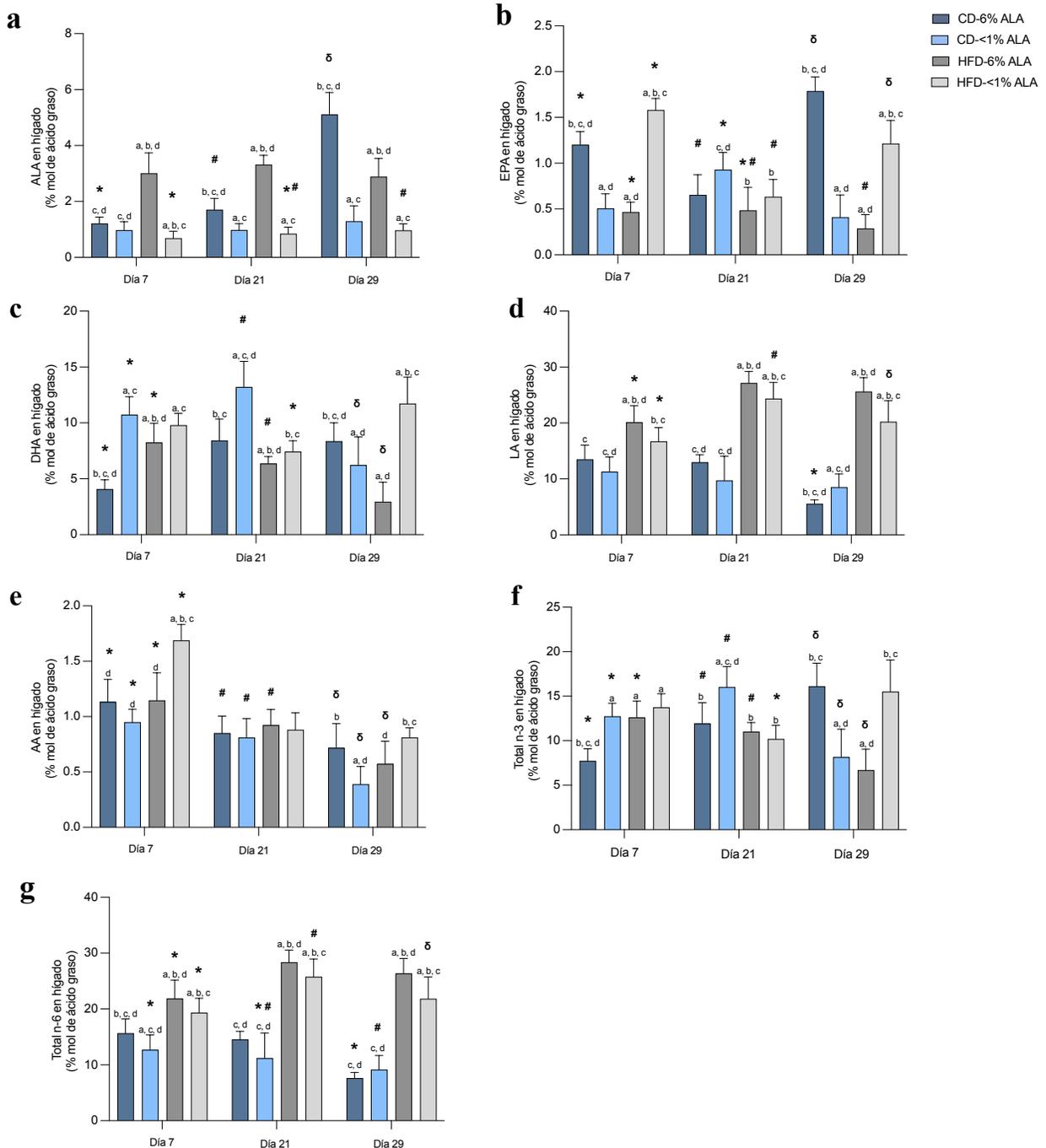
**FIGURA.** % de AG en ojos de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=12 machos + hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre cada día ( $p < 0.05$ ), mientras que los símbolos, indican las diferencias significativas entre cada grupo ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 10. Composición de AG en tejido adiposo de crías



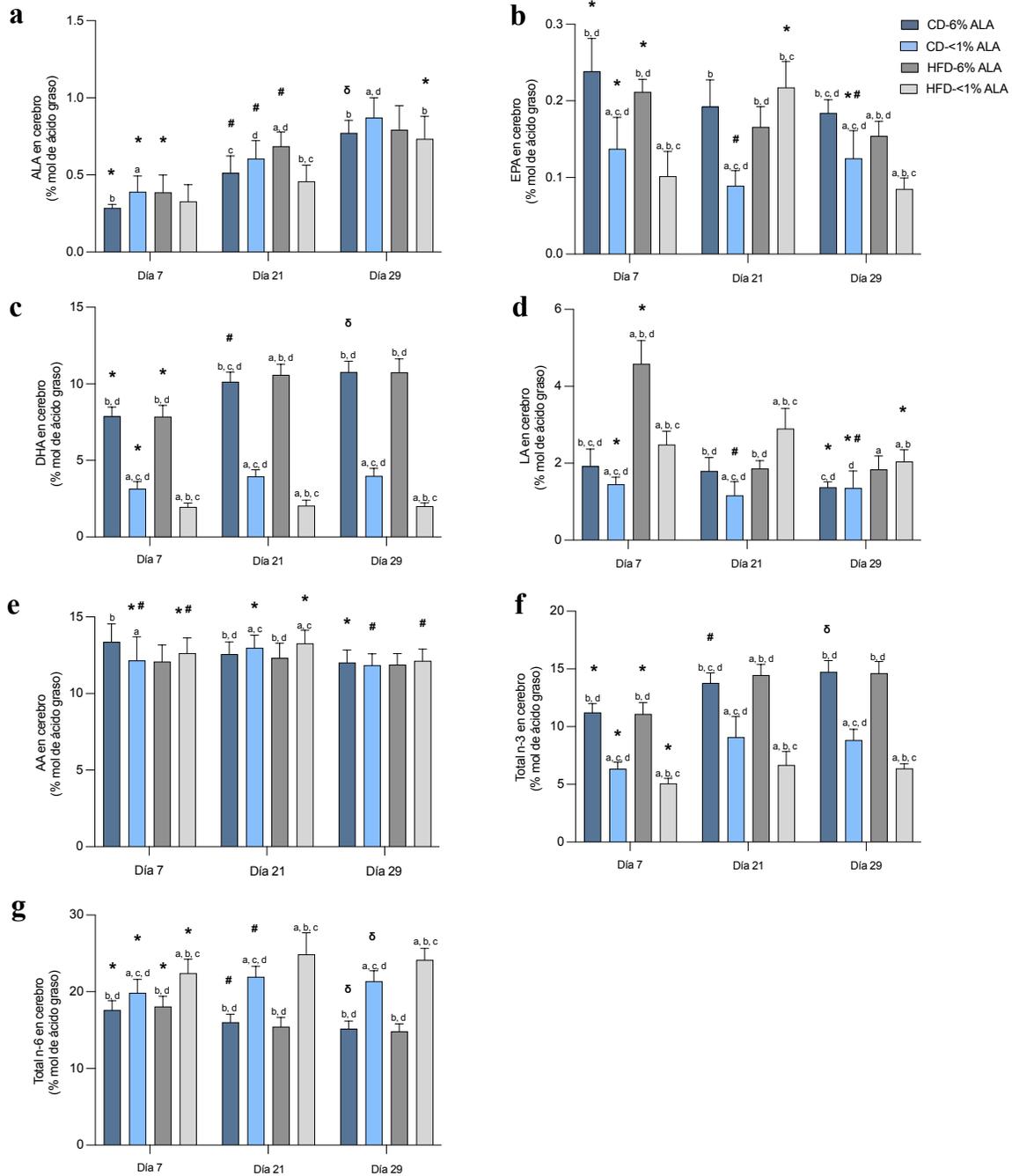
**FIGURA.** % de AG en tejido adiposo de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=12 machos + hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre cada día ( $p < 0.05$ ), mientras que los símbolos, indican las diferencias significativas entre cada grupo ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 11. Composición de AG en hígado de crías



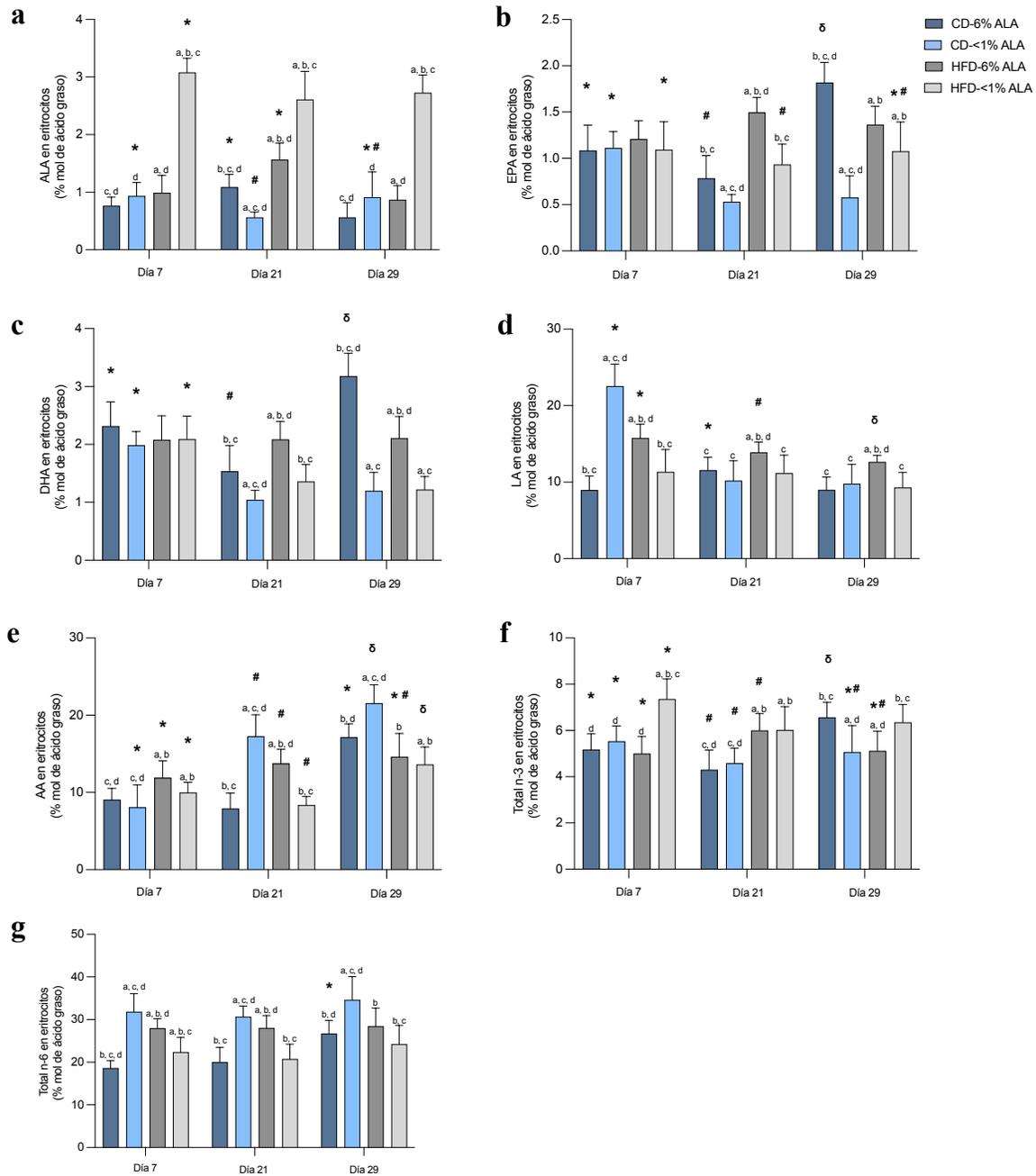
**FIGURA.** % de AG en hígado de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=12 machos + hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre cada día ( $p < 0.05$ ), mientras que los símbolos, indican las diferencias significativas entre cada grupo ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 12. Composición de AG en cerebro de crías



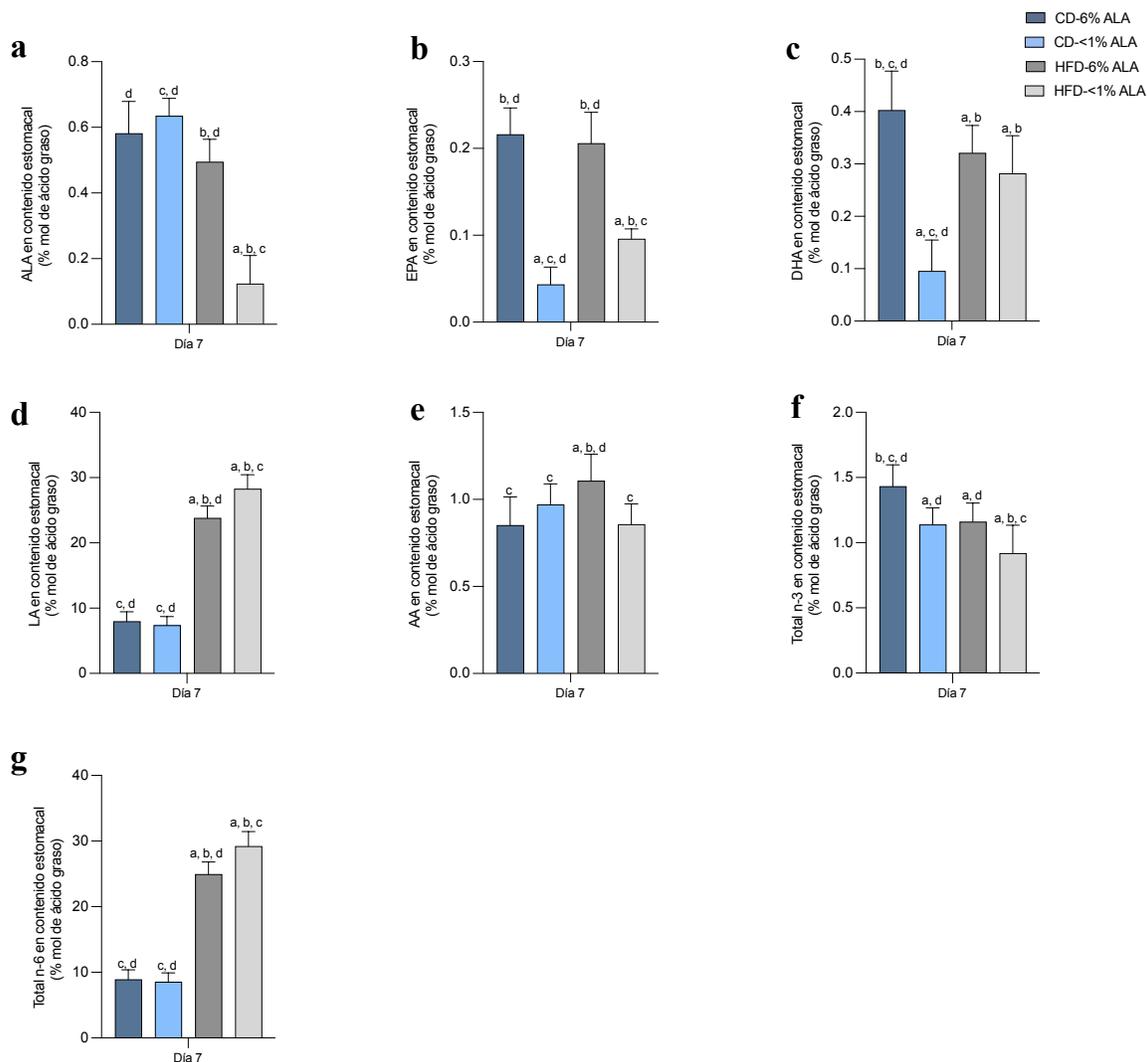
**FIGURA.** % de AG en cerebro de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=12 machos + hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre cada día ( $p < 0.05$ ), mientras que los símbolos, indican las diferencias significativas entre cada grupo ( $p < 0.05$ ).

### Anexo 13. Composición de AG en eritrocitos de crías



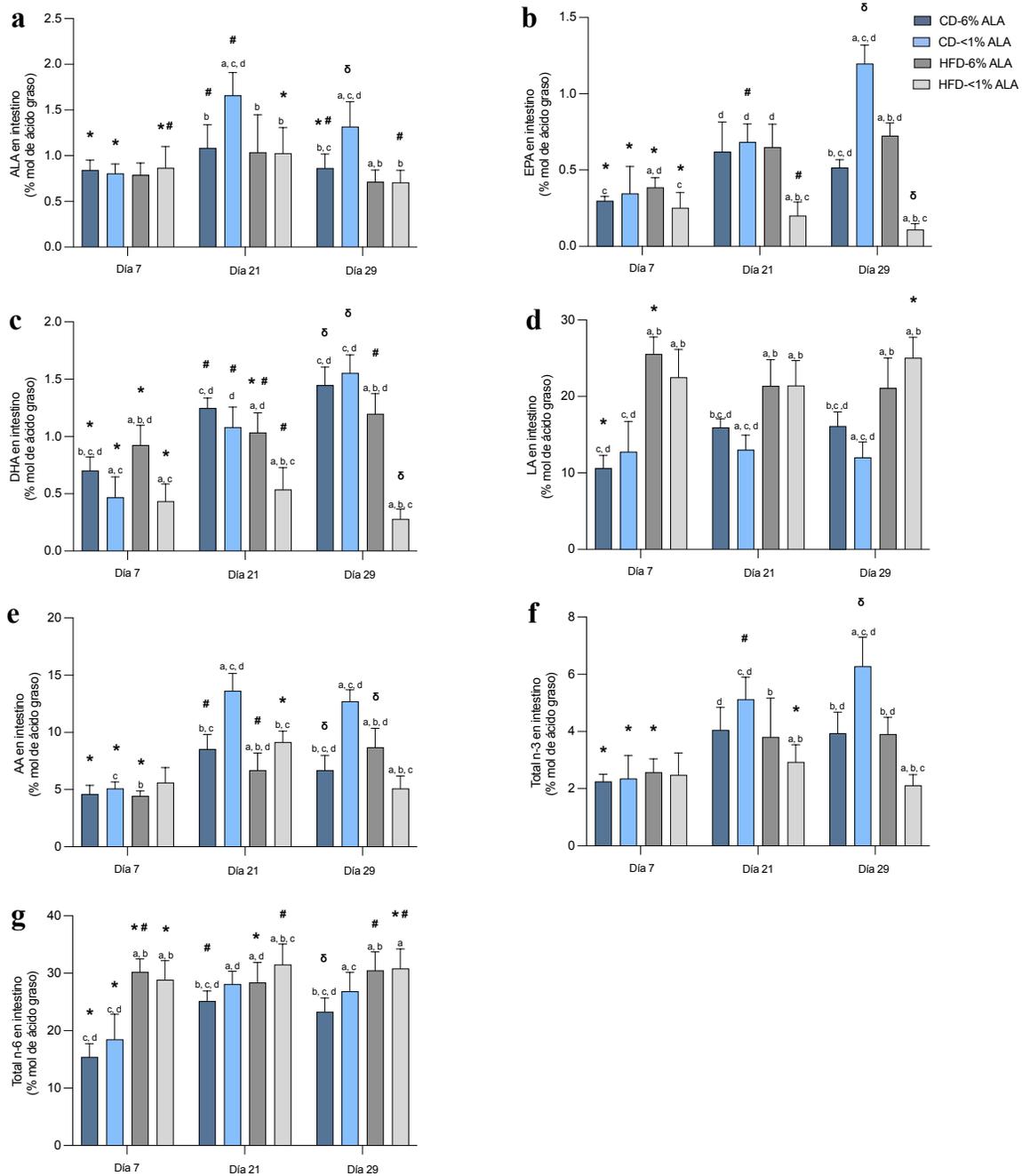
**FIGURA.** % de AG en eritrocitos de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=12 machos + hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre cada día ( $p < 0.05$ ), mientras que los símbolos, indican las diferencias significativas entre cada grupo ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 14. Composición de AG en contenido estomacal de crías



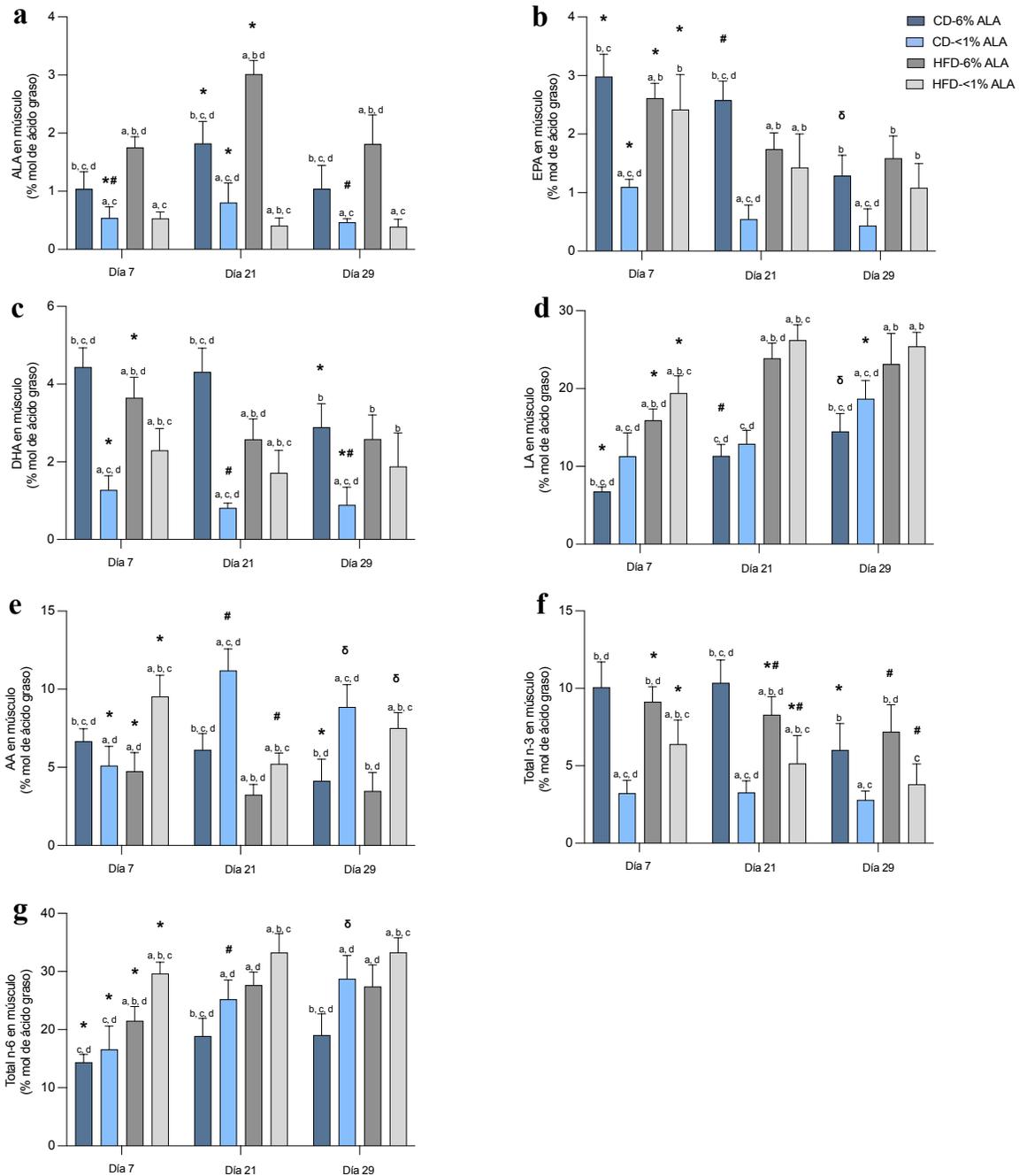
**FIGURA.** % de AG en contenido estomacal de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=12 machos + hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 15. Composición de AG en intestino de crías



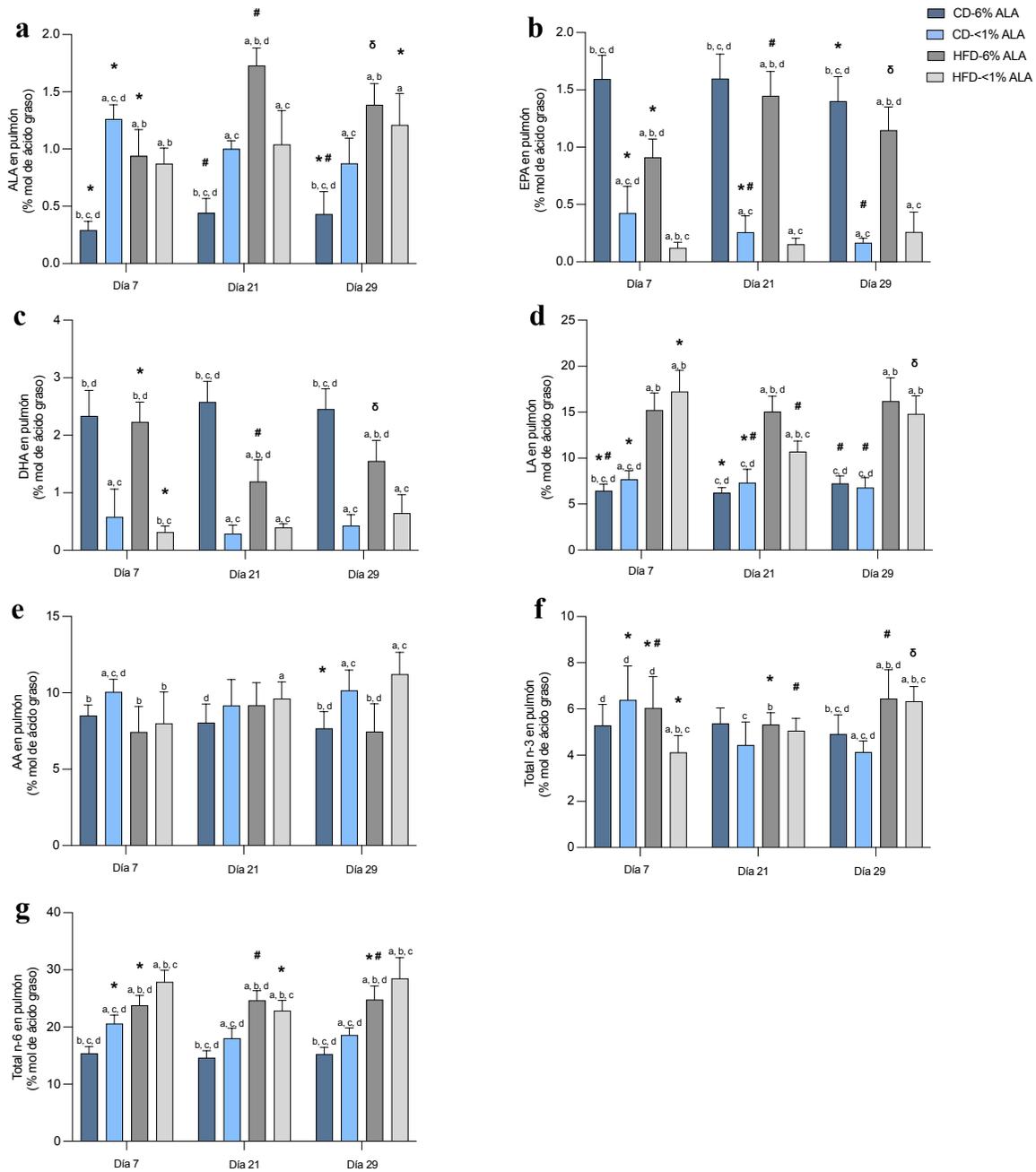
**FIGURA.** % de AG en intestino de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=12 machos + hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre cada día ( $p < 0.05$ ), mientras que los símbolos, indican las diferencias significativas entre cada grupo ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 16. Composición de AG en músculo de crías



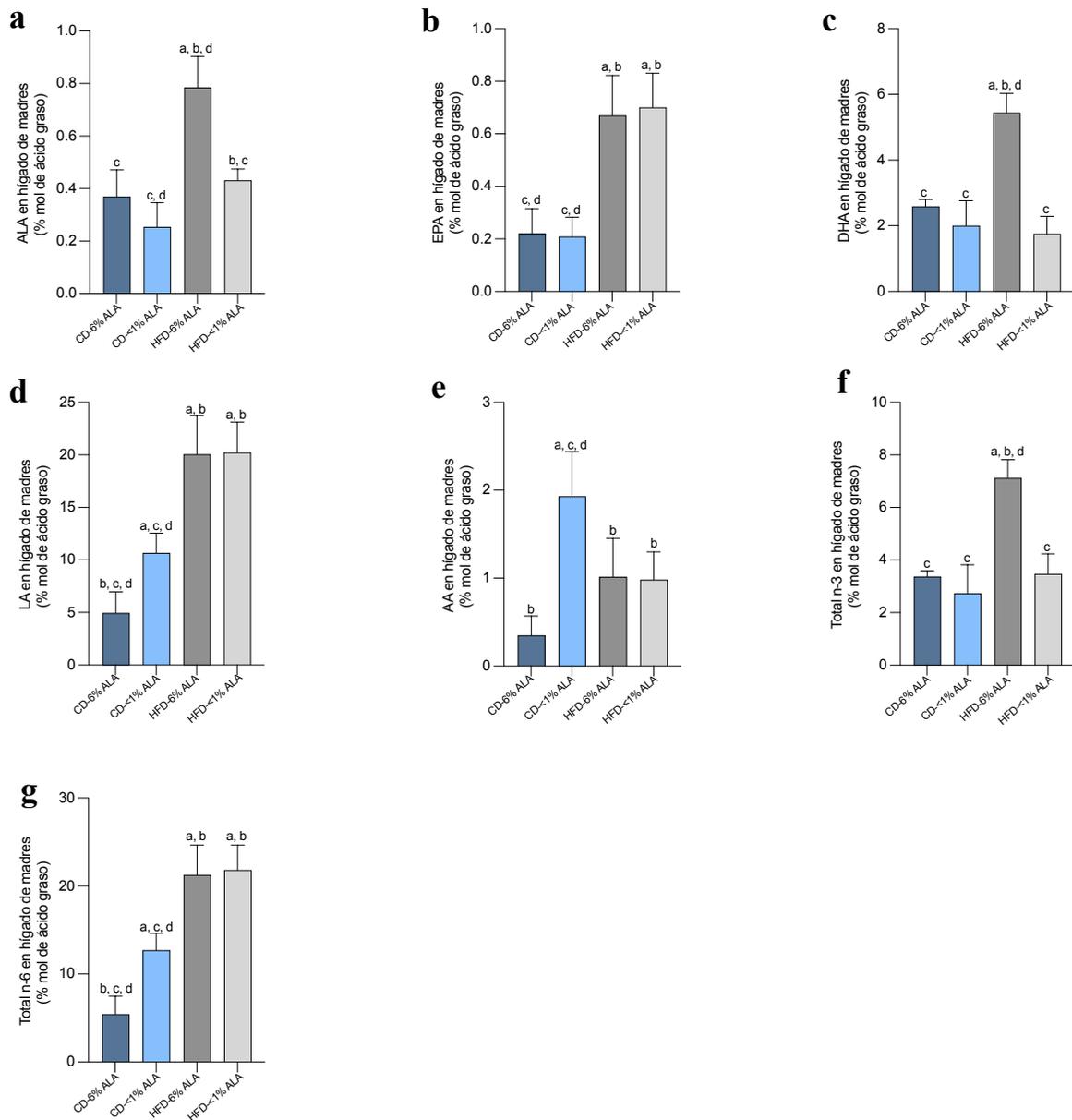
**FIGURA.** % de AG en músculo de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=12 machos + hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre cada día ( $p < 0.05$ ), mientras que los símbolos, indican las diferencias significativas entre cada grupo ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 17. Composición de AG en pulmón de crías



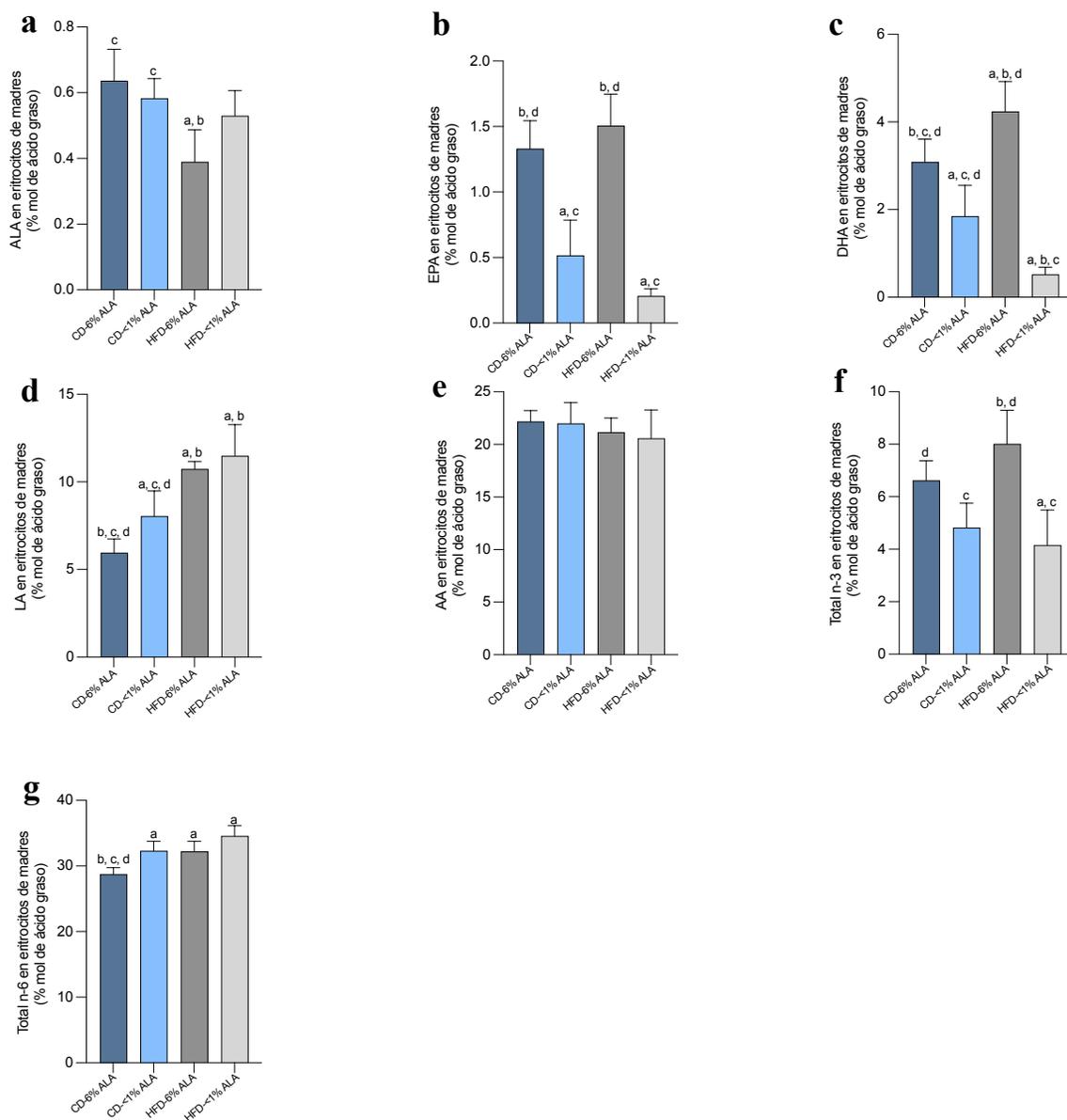
**FIGURA.** % de AG en pulmón de crías (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=12 machos + hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre cada día ( $p < 0.05$ ), mientras que los símbolos, indican las diferencias significativas entre cada grupo ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 18. Composición de AG en hígado de madres



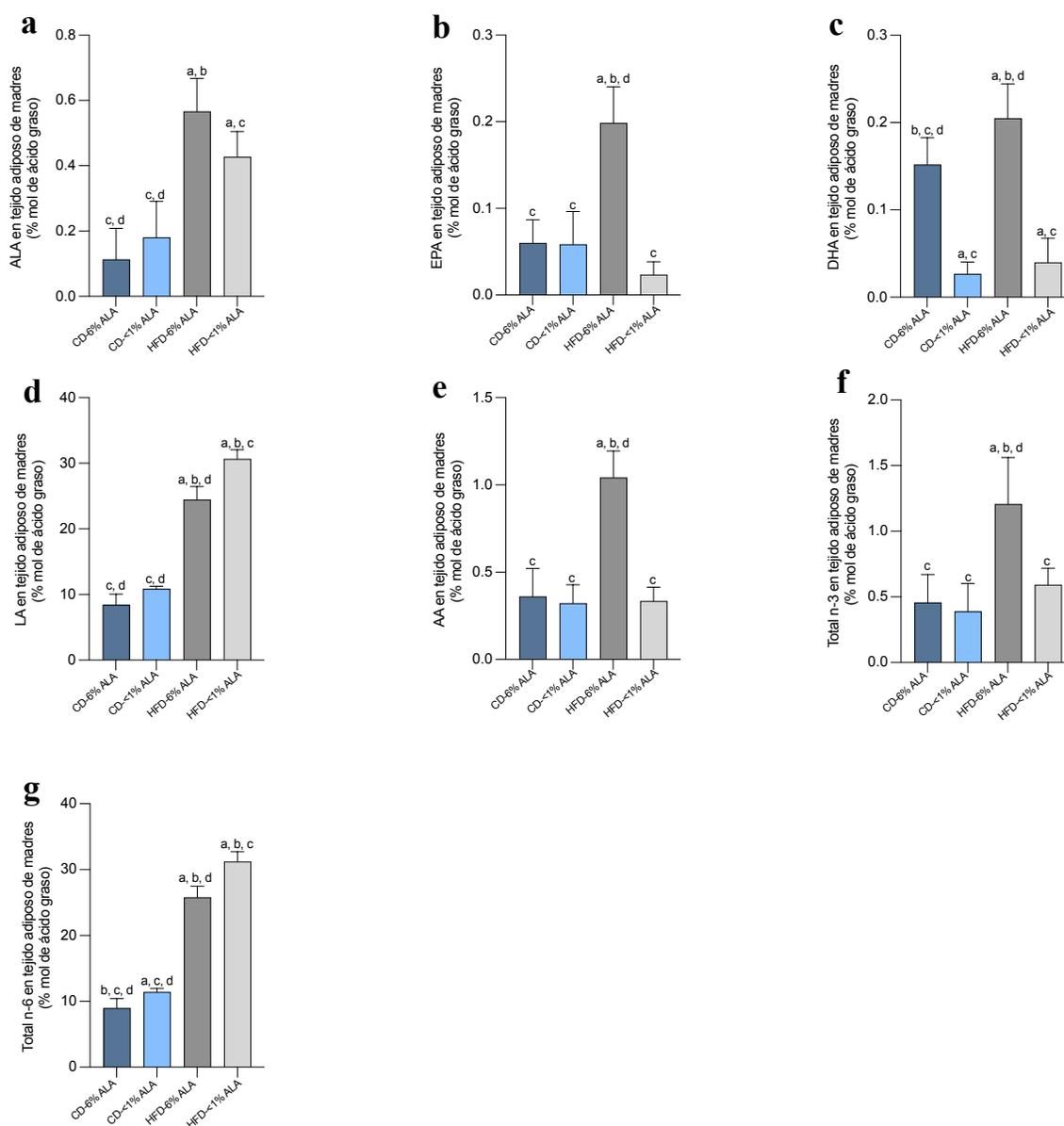
**FIGURA.** % de AG en hígado de madres (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=6 hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 19. Composición de AG en eritrocitos de madres



**FIGURA.** % de AG en eritrocitos de madres (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=6 hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ ).

## Anexo 20. Composición de AG en tejido adiposo de madres



**FIGURA.** % de AG en tejido adiposo de madres (a) ALA (b) EPA (c) DHA (d) LA (e) AA (f) Total n-3 (g) Total n-6. Datos presentados como % mol de ácido graso. n=6 hembras. Total de n-3 corresponde a C18:3, C20:5, C22:5, C22:6. Total de n-6 corresponde a C18:2, C20:4, C22:5. Análisis estadístico: i) ANOVA de dos vías seguido de post-test Tukey para analizar las diferencias entre cada grupo; las letras en la parte superior de las barras representan diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ ).