

Efecto de la suplementación de dietas de recuperación con ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3. Estudio en modelo experimental

Fernández, Inés; Pallaro, Anabel Nora; Slobodianik, Haydee

Laboratorio de Nutrición Experimental. Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Dirección Postal: Prof.Dra. Slobodianik Nora H. Laboratorio de Nutrición Experimental. Cátedra de Nutrición. Junin 956- 2do piso- (1113) - Capital Federal. Te/Fax : 4964-8243.

RESUMEN: Ratas Wistar alimentadas al destete con maíz al 6,5% durante 9 días (M) muestran atrofia tímica. Se estudia la capacidad de revertir dicho efecto utilizando dieta de recuperación a base de caseína al 20% durante nueve días sin (MC) y con (MC24) un suplemento de 24 mg/día de AGPI n-3. Se determina el número de timocitos (Rc), el número absoluto de células T W3/13 + (Nc) y se analiza el perfil de lípidos plasmáticos. MC24 y MC presentaron valores superiores en Rc, Nc, colesterol (COL) y triglicéridos (TG) al compararse con M ($p < 0.01$). Al comparar MC24 con MC se observan valores de Rc y Nc mayores y no estadísticamente significativos a $p < 0.01$; por el contrario, los niveles de TG son estadísticamente inferiores ($p < 0.01$). La suplementación con AGPI n-3, sería efectiva para revertir el efecto provocado por la proteína de maíz, con una leve modificación del cuadro lipídico.

SUMMARY: SUPPLEMENTATION OF DIETS WITH N-3 PUFA. STUDY IN AN EXPERIMENTAL MODEL. Fernández, Inés; Pallaro, Anabel Nora; Slobodianik, Haydee. We study if a supplement of n-3 PUFA is able to reverse the arrest on cellular proliferation and maturation caused by a 6,5% maize diet on thymus of weanling Wistar rats. The animals were divided in two groups that received a 20% casein recovery diet during 20 days with (MC24) and without (MC) a supplement containing 24 mg/day of n-3 PUFA. Then they were killed and thymuses were removed. Cell number (Rc), absolute number of T cells W3/13 + (Nc) and profile plasma lipids were determined. MC24 and MC showed highest values of Rc, Nc, Cholesterol and triacylglycerides when compared with M ($p < 0.01$). No differences in Rc and Nc ($p < 0.01$) were observed between MC24 and MC even though MC24 showed a tendency toward higher values. MC24 also presented lower values of triacylglycerides when compared with MC ($p < 0.01$). The supplementation with n-3 PUFA, would be effective to reverse the effect provoked by maize diet, with a very small changes on lipid profile.

Introducción

Es conocido y totalmente aceptado que una buena alimentación es la base fundamental para el adecuado desarrollo de todo ser viviente. Por lo tanto, frente a un desequilibrio nutricional, es de esperar que el mismo se encuentre seriamente comprometido (1).

La deficiencia de lisina (aminoácido indispensable) que caracteriza a la proteína del maíz, lo convierte a éste en una fuente proteica de baja calidad. La administración de dietas utilizando harina de maíz como única fuente proteica y en baja concentración, a ratas en período de crecimiento activo, afecta profundamente al timo, provocando el frenado en la proliferación y diferenciación celular del mismo, por lo cual, el sistema inmune celular se encuentra comprometido (2,3).

Algunos investigadores afirman que el consumo de aceite de pescado, importante aportador de AGPI n-3, como un suplemento dietario, produce un efecto supresor de la respuesta inmune mediada por células sin llegar a comprometer la inmunidad humoral (4-6). Otros autores han comprobado

que dicho efecto es dependiente de la cantidad administrada, ya que con ingestas moderadas no se visualiza el efecto inmunosupresor (7). Los resultados reportados sugieren que el efecto modulador de estos aceites sobre el sistema inmune dependerá del tiempo de administración, de la clase de aceite y del órgano examinado (8).

Una característica importante de los AGPI n-3 es la capacidad de disminuir los niveles de colesterol y triglicéridos plasmáticos en pacientes con importantes dislipemias, convirtiéndolos en compuestos de suma utilidad en terapias alternativas (9-13).

En trabajos previos de nuestro grupo, hemos demostrado que ratas Wistar con desnutrición proteica severa desde el destete, experimentan un frenado en la proliferación y en la población celular T total, hecho que fue revertido por el suministro durante 9 días de una dieta de recuperación a base de caseína al 20% suplementada con 24 mg/día de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (14,15).

El objetivo del presente trabajo consiste en evaluar si un suplemento de 24 mg/día de AGPI n-3, es capaz de revertir la atrofia tímica provocada

por la administración a ratas desde el destete de una dieta a base de proteína de maíz en baja concentración (6,5%), durante 9 días, analizando además el efecto del mismo sobre el perfil de lípidos plasmáticos.

Materiales y Métodos

Ratas de la cepa Wistar (n=30), son alimentadas desde el destete y durante 9 días, con una dieta de maíz al 6,5% (M). Al cabo de este tiempo los animales se dividen en dos grupos que reciben una dieta de recuperación a base de caseína al 20% durante 20 días sin (MC) y con (MC24) la incorporación diaria de un suplemento de aceite de pescado (salmón) de origen comercial como única fuente de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (30 % de EPA y DHA por gramo de aceite). MC24 recibió 77,8 mg/día de aceite, aportando 24 mg/día de AGPI n-3.

Durante todo el período experimental los animales se expusieron a un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (7.00 AM -7.00 PM); la temperatura del bioterio se mantuvo en 21 ± 1 °C; el suministro de agua y dieta fue proporcionado "ad libitum".

Al final de cada período experimental los animales se mantuvieron 3-4 horas en ayuno; luego fueron pesados y sacrificados bajo anestesia. Se extrajo sangre por punción venosa y se determinaron los lípidos plasmáticos (Colesterol total, Triglicéridos y HDL-Colesterol) aplicando méto-

dos enzimáticos (Reactivos Wiener : Colestat Enzimático AA, Triglicéridos Color GPO/PAP AA y HDL Colesterol Monofase AA. Todas estas determinaciones se realizaron en una Equipo Automatizado : Ciba-Corning 550 Express). El nivel de la fracción de LDL-Colesterol se determinó por cálculo a partir de la ecuación de Friedewald: $LDL-Colesterol = Colesterol Total - (Triglicéridos / 5 + HDL-Colesterol)$ (16).

El timo fue extraído, pesado y colocado en una solución constituida por medio RPMI 1640 (Laboratorios Gibco) y Suero Bovino Fetal. Con él se prepararon suspensiones celulares monodispersas, trabajándose siempre a 4°C. Se realizó el recuento celular utilizando la cámara de Neubauer y se determinó la población celular T total usando el anticuerpo monoclonal xenogéneo W3/13, fabricado en ratón, y como segundo antisuero la fracción IgG de conejo conjugado al isotiocianato de fluoresceína con actividad anti IgG de ratón (Accurate Chemicals), expresándose los resultados en $cél \times 10^{-7} / \text{órgano}$.

Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando test de Anova (17,18).

Resultados y Discusión

El consumo de dieta (gramos/día) y la ingesta calórica diaria ($E = kcal/día/P^{0.75}$), en función de la masa metabólicamente activa $\{P^{0.75} = [(Po + Pf) / 2]^{0.75}\}$, no arrojó diferencias significativas entre los dos grupos realimentados, MC y MC24, respectivamente. (Tabla 1).

Tabla 1. Consumo de Dieta e Ingesta Calórica de los dos grupos realimentados Mc y Mc 24

Grupos	Consumo de dieta gr/día	Ingesta de Energía kcal/día/P ^{0.75}
Mc	10.2 ± 1.1	1.58 ± 0.11
Mc 24	10.4 ± 1.4	1.57 ± 0.06

El peso corporal (g) y el peso del timo expresado en mg y en función de la masa metabólicamente activa (Peso final^{0.75}), presentan valores superiores a M cuando se analizan MC y MC24. Idéntico comportamiento estadístico se observa al evaluar el recuento celular (Rc) y el número

absoluto de células T W3/13+. Los datos no revelan diferencias estadísticas entre MC y MC24 a $p < 0.01$, pero es importante destacar que MC24 muestra una tendencia hacia valores mayores. (tabla 2)

Tabla 2. Peso Corporal, Peso del Timo, N° de Timocitos y N° Absoluto de Células T W3/13+ de los grupos Experimentales M, MC y MC 24

Grupo	Peso Corporal g	Peso del Timo mg		N° de Cel. 10 ⁻⁷ /órgano	N° ABS de * Cel. W3/13+ 10 ⁻⁷ /órgano
		mg	mg/p ^{0.75}		
MC	110.3 ± 7.9#	397.4 ± 33.0#	11.7 ± 0.4 #	52.9 ± 16.5 #	28.9 ± 11.2 #
MC 24	120.3 ± 26.5#	450.9 ± 166.9#	12.14 ± 2.5#	70.3 ± 32.4 #	45.0 ± 18.2 #
M	40.3 ± 8.1	111.2 ± 21.9	6.9 ± 0.7	12.8 ± 7.2	11.3 ± 3.8

Los resultados se expresan como $\bar{X} \pm DE$; 8-10 ratas por grupo.

a) fueron leídas entre 400-800 células.

0.001 < p > 0.01 con respecto a M.

El análisis del perfil de lípidos plasmáticos revela que MC y MC24 presentan valores de colesterol total y triglicéridos superiores a M. MC24 muestra valores de triglicéridos inferiores a los de MC

($p < 0.01$). No se observan diferencias estadísticas significativas a nivel de $p < 0.01$ en las fracciones HDL y LDL-Colesterol entre los grupos estudiados. (Tabla 3).

Tabla 3. Perfil de Lípidos plasmáticos de los grupos Experimentales

Grupo	Colesterol Total g/100 ml	Triglicéridos mg/100 ml	HDL-Colest. mg/100 ml	LDL-Colest. mg/100 ml
MC	89.8 ± 9.1 #	176.5 ± 39.7 #	32.2 ± 3.0	27.5 ± 3.4
MC 24	84.9 ± 5.5 #	119.8 ± 29.2 # *	32.4 ± 4.6	28.6 ± 3.4
M	65.5 ± 7.4	51.0 ± 23.2	26.9 ± 4.4	28.4 ± 7.2

Los resultados se expresan como $\bar{X} \pm DE$; 8-10 ratas por grupo.

p < 0.01 con respecto a M.

* p > 0.01 con respecto a MC

Conclusiones

Trabajos previos de nuestro grupo han demostrado que ratas Wistar alimentadas desde el destete y durante 9 días con una dieta a base de una proteína de baja calidad (maíz) y en baja concentración – 6,5%- experimentan atrofia tímica (2,3).

Este trabajo evalúa si la suplementación de dietas de recuperación con AGPI n-3 sería efectiva para revertir dicho efecto. La dieta de recuperación

contiene caseína, fuente proteica de alta calidad.

La información de la tabla 2 demuestra que tanto MC como MC24 presentan valores de recuento celular y número absoluto de células W3/13+ superiores a M, pero que no difieren estadísticamente entre sí. Sin embargo, no podemos dejar de destacar que el agregado de aceite de pescado da como resultado valores de Rc y Nc superiores a los que se obtienen sin dicho suplemento, lo cual marca una tendencia y pone de manifiesto lo aconsejable

de su utilización en dichas circunstancias.

El análisis del perfil lipídico presentó diferencias a nivel de las fracciones de Colesterol total y Triglicéridos siendo superiores para los dos grupos realimentados. Las fracciones de HDL y LDL-Colesterol, no se modificaron. El consumo de dieta y la ingesta calórica diaria, no arrojó diferencias entre MC y MC24. Por lo tanto, dicho incremento podría fundamentarse en una alteración en el metabolismo lipídico en virtud del desequilibrio nutricional ocasionado por una dieta con distorsión en nutrientes.

Datos internacionales demuestran que la incorporación de aceite de pescado en la alimentación habitual, contribuye a disminuir los niveles de triglicéridos (TG) y colesterol plasmáticos (9-13). El análisis de los datos de la tabla 3, muestra que si bien el colesterol es del mismo orden para ambos grupos experimentales, MC24 presenta valores de TG menores como consecuencia de dicho suplemento.

Por lo tanto, el uso de dietas de recuperación suplementadas con AGPI de la serie n-3, representaría una alternativa aconsejable para corregir la atrofia tímica ocasionada por la administración de dietas con una distorsión en el cuadro de aminoácidos indispensables, provocando una leve modificación del cuadro lipídico.

Agradecimientos

Se agradece a la Sra. Lía C. de Calafat por su asistencia técnica en la elaboración de las dietas. Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la Universidad de Bs.Aires.(TB-077).

Bibliografía

- Forbes G.B. 1991. Composición del Organismo. Conocimientos Actuales de Nutrición. OPS. ILSI. (USA). 2: 8-15.
- Pallaro A.N., Slobodianik N.H., Roux M.E., Rio M.E. 1991. Short-term feeding period of a low-quality dietary protein on the thymus of weanling rats. *Com Biol (Buenos Aires)*, 9, 3:227-234.
- Pallaro A.N. 1996. Efecto de la calidad proteica sobre el timo de ratas en período de crecimiento activo. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.
- Kelley D.S., Branch L.B. and col. 1991. Dietary alpha-linolenic acid and immunocompetence in humans. *Am J Clin Nutr*, 53: 40-46.
- Gibney M.J. and Hunter B. 1993. The effect of short and long term supplementation with fish oil on the incorporation of n-3 polyunsaturated fatty acids into cells of the immune system in healthy volunteers. *Eur J Clin Nutr*, 47: 255-259.
- Barone J., Herbert J.R. and Reddy M.M. 1989. Dietary fat and natural-killer-cell activity. *Am J Clin Nutr*, 50: 861-867.
- Hinds A. and Sanders T.A.B. 1993. The effect of increasing levels of dietary fish oil rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on lymphocyte phospholipid fatty acid composition and cell-mediated immunity in the mouse. *Br J Nutr*, 69: 423-429.
- Lozniskar M., Nauss K. and Newberne P.M. 1983. The effect of quality and quantity of dietary fat on the immune system. *J Nutr*, 113: 951-961.
- Von Lossonczy T.O., Ruiter A., Bronsgeest-Schoute H.C., Van Gent C.M. and Hermus R.J.J. 1978. The effect of a fish diet on serum lipids in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr*, 31: 1340-1346.
- Bronsgeest-Schoute H.C., Van Gent C.M., Luten J.B. and Ruiter A. 1981. The effect of various intakes of w3 fatty acids on blood lipid composition in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr*, 34: 1752-1757.
- Harris W.S., Zucker M.L. and Dujovne C.A. 1988. w-3 Fatty acids in hypertriglyceridemic patients: triglycerides vs methyl esters. *Am J Clin Nutr*, 48: 992-997.
- Kestin M., Clifton P., Belling G.B. and Nestel P.J. 1990. n-3 Fatty acids of marine origin lower systolic blood pressure and triglycerides but raise LDL cholesterol compared with n-3 and n-6 fatty acids from plants. *Am J Clin Nutr*, 51: 1028-1034.
- Herold P.M. and Kinsella J.E. 1986. Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease: a comparison of findings from animal and human feeding trials. *Am J Clin Nutr*, 43: 566-598.
- Fernandez I., Feliu M.S., Pallaro A.N., Slobodianik N.H. 1997. Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 PUFA sobre el timo de ratas con depleción proteica severa. *Medicina (Bs.As.)*, 57: 72-74.
- Fernandez I., Novoa Bermudez M.J., Pallaro A., Slobodianik N.H. 1999. Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (AGPI n-3) en la recuperación nutricional. *Arch Latin Nutr*, 49, 1: (en prensa).
- Friedewald W.T., Levy R.I. and Fredrickson D.S. 1972. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 18, 6: 499-502.
- Schwartz D. 1963. *Methods statistiques. a l' usage des medecins et des biologistes.* De. Medicales Flammarion, Paris.
- Scheffé H. 1959. *The analysis of variance.* Wiley (Ed). New York.