Artículo Original / Original Article

Perfil hepático de ácidos grasos de ratas gestantes-lactantes y vírgenes suplementadas con espirulina (*Arthrospira platensis*)

Hepatic fatty acid profile of pregnant-lactating and virgin rats supplemented with spirulina (*Arthrospira platensis*)

Giuliana Carpio^{*1}, <https://orcid.org/0000-0002-9227-6770>

Patricia Gil-Kodaka², <https://orcid.org/0000-0002-8448-7893>

María Elena Villanueva³, <https://orcid.org/0000-0001-7900-6664>

1. Universidad Nacional Agraria La Molina, Escuela de Posgrado,
Lima, Peru.

2. Universidad Nacional Agraria La Molina, Departamento Académico de Manejo Pesquero y Medio Ambiente,
Facultad de Pesquería, Lima, Peru.

3. Universidad Nacional Agraria La Molina, Departamento Académico de Nutrición,
Facultad de Zootecnia, Lima, Peru.

*Dirigir Correspondencia: Giuliana Carpio.

Universidad Nacional Agraria La Molina. Av. La Molina s/n, La Molina, Lima, Peru.

E-mail: giucarpio@gmail.com

Este trabajo fue recibido el 13 de mayo de 2020.

Aceptado con modificaciones: 30 de noviembre de 2020.

Aceptado para ser publicado: 20 de diciembre de 2020.

RESUMEN

Siendo la desnutrición un gran problema en países en desarrollo, que afecta en especial a madres gestantes y a recién nacidos, es necesario recurrir a fuentes de alimentos funcionales que contribuyan a mejorar dicho problema. La espirulina es un alimento ampliamente disponible y con un buen perfil nutricional que podría ser de utilidad, aunque no exista evidencia de su efecto sobre el perfil de ácidos grasos en periodo reproductivo en humanos o animales. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del consumo de espirulina en ratas Holtzman gestantes-lactantes y vírgenes sobre el perfil hepático de ácidos grasos. Para ello, se consideraron 3 tratamientos: control, 5% y 10% de suplemento de espirulina, evaluándose las variables de relación producto/precursor de las enzimas de elongación e insaturación de ácidos grasos en hígado, peso del hígado y grasa visceral, consumo de alimento y evolución del peso corporal. Se obtuvo un incremento en la concentración de ácidos grasos n-6 y saturados en el hígado de ratas gestantes-lactantes, acompañado de un mayor apetito y aumento del peso de las crías al nacer, sin modificar el peso de las madres. El peso del hígado disminuyó solo en ratas gestantes-lactantes y la grasa visceral aumentó solo en ratas vírgenes. Se concluye que el consumo de espirulina en las ratas gestantes-lactantes mejora su perfil AGPI n-6 hepático y su apetito, así como el peso de las crías al nacer, sin influir en el peso de las madres.

Palabras clave: Ácidos grasos; Espirulina; Gestación; Hígado; Lactancia.

ABSTRACT

As malnutrition, which primarily affects pregnant mothers and newborns, is a major problem in developing countries it is necessary to use functional food sources that help to improve this problem. Spirulina is a widely available food with a good nutritional profile that could be useful, however, there is no evidence of its effect on the fatty acid profile during the reproductive period in female rats. The objective of this study was to evaluate the effect of spirulina consumption in pregnant-lactating and virgin Holtzman rats on the hepatic fatty acid profile. For this, 3 treatments were considered: control, 5% and 10% of spirulina supplement, evaluating the variables of the product/precursor ratio of the elongation and unsaturation enzymes of fatty acids in liver, liver and visceral fat weight, intake of food and body weight evolution. An increase in the concentration of PUFA n-6 and saturated fatty acids was obtained in the liver of pregnant-lactating rats, accompanied by a greater appetite and an increase in offspring weight at birth, without modifying the weight of the mothers. Liver weight decreased only in pregnant-lactating rats and visceral fat increased only in virgin rats. It is concluded that the intake of spirulina in pregnant-lactating rats improves their PUFA n-6 hepatic profile and their appetite, as well as the weight of the pups at birth, without influencing the weight of mothers.

Keywords: Fatty acids; Lactation; Liver; Pregnancy; Spirulina.

INTRODUCCIÓN

La desnutrición ha sido ampliamente reconocida como un problema grave que restringe el progreso de países en vías de desarrollo, dando como resultado alta morbilidad maternal y mortalidad neonatal¹. La inmunidad que se genera durante la nutrición materna, neonatal y posnatal, proporciona un enfoque eficaz para disminuir el riesgo de desnutrición asociado a estrés en la edad adulta; en particular, el estado nutricional de la madre es un factor crítico para determinar los aspectos de salud a largo plazo de su descendencia^{1,2}, como un sistema inmunológico deficiente, retraso en el desarrollo motor², neuroconductual y neurocognitivo; el estrés emocional de la madre y la ingesta insuficiente o pobre de nutrientes está relacionada con aspectos estructurales, neuroquímicos y funcionales alterados del hipocampo y el funcionamiento neurocognitivo deficiente de la descendencia³.

Durante la gestación y la lactancia aumenta el riesgo de carencia de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL), debido a que las reservas de los tejidos maternos suelen disminuir al utilizarse para el desarrollo del feto. Si la madre recibe un aporte adecuado de AGPI-CL, le podrán aportar lo necesario para el desarrollo normal del sistema nervioso y visual⁴. Estas etapas son críticas, ocurre la mayor movilización de grasa, la composición lipídica de la dieta y los depósitos de grasa en la madre, tienen efecto en la naturaleza de los ácidos grasos transferidos (a través de la placenta y en la leche materna)^{5,6} y en la composición de ácidos grasos de la descendencia⁷.

Los ácidos linoleicos (LA) y linolenico (ALA) tienen funciones metabólicas específicas (suministro de energía, regulación de la actividad enzimática y regulación de la expresión génica), una de las funciones más importantes es ser precursores metabólicos de AGPI-CL: ácido araquidónico (AA) y ácido docosahexaenoico (DHA)/ ácido eicosapentaenoico (EPA) respectivamente. Esta conversión implica procesos de elongamiento y desaturación catalizados por enzimas elongasas y desaturasas delta 5 ($\Delta 5$) y delta 6 ($\Delta 6$)⁸ en cuya regulación participan los factores de transcripción PPAR

y SREPB-1⁹. El consumo de ARA y DHA tiene importancia nutricional y fisiológica durante los primeros meses de vida ya que ejercen un rol fundamental en el desarrollo neural. Estos AGPI-CL representan aproximadamente 25% del contenido total de ácidos grasos cerebrales y tienen efecto sobre el crecimiento y diferenciación neuronal, transducción de señales asociadas a proteínas G y en la modulación de expresión génica¹⁰.

El valor de los ácidos grasos libres maternos se ha relacionado directamente con el porcentaje de grasa, el índice de masa corporal (IMC) y el peso futuro de la descendencia; pudiendo ocasionar enfermedades no transmisibles como enfermedades cardiovasculares u obesidad en su vida adulta⁵. Los PPAR están involucrados en la programación fetal, el desarrollo en el primer año de vida y el riesgo padecer esas enfermedades. Los AGPI-CL n-3 son ligandos fuertes para los PPAR, desencadenando su expresión en diferentes tejidos (placenta, hígado, pulmones y cerebro) donde la concentración de los ligandos en la madre, especialmente del DHA, podrían influir en la activación de los PPAR y, por lo tanto, en el desarrollo embrionario, del feto y la placenta¹¹. Una dieta basada en ácidos grasos saturados (AGS) y ácidos grasos trans (AGT) durante la gestación y lactancia, de la misma forma, puede tener un efecto negativo en la programación fetal, modificando el metabolismo de los lípidos y la glucosa del feto⁵.

La alta demanda de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL), principalmente del feto y del recién nacido, genera una estrecha coordinación entre el hígado y la glándula mamaria para sintetizarlos¹². Durante la lactancia, la SREBP-1 regula la síntesis de ácidos grasos (AG) y triacilglicérol y las $\Delta 5$ y $\Delta 6$ se expresan principalmente en la glándula mamaria; la síntesis de AGPI-CL relevante en este tejido sumada a la síntesis hepática asegurarían un aporte suficiente de estos ácidos grasos¹³.

El comportamiento de cada tejido dependerá de la etapa en que se encuentre la madre¹² y está relacionado con el IMC materno y el aumento de peso gestacional de la madre¹⁴.

La espirulina (*Arthrospira platensis*) es un alimento que tiene un gran potencial nutricional. Contiene ácidos grasos (ácido gamma-linoleico, GLA, que representa el 49% de sus lípidos totales, ácido palmítico, AL, ácido oleico, ALA, etc.), vitaminas, diversos minerales, polisacáridos, glicolípidos y sulfolípidos, enzimas, varios pigmentos y el 60 a 70% de su peso seco son proteínas². Existen estudios^{2,3,15,16,17,18,19,20} que muestran los beneficios de sus componentes bioactivos, combatiendo la desnutrición y el estrés causado por enfermedades y trastornos metabólicos. Los AGPI de la espirulina influyen en el metabolismo lipídico, reducen la incidencia de lesiones hepáticas, mejoran las anomalías en hepatocitos, tienen efecto hipolipidémico al regular AMPK- α y regulan a la baja las vías de SREBP-1c y HMG-CoA en el hígado, en ratas que reciben una dieta alta en grasa²¹. No obstante, no hay evidencia de su consumo en el metabolismo lipídico en ratas hembras ni en mujeres durante la gestación y lactancia.

La presente investigación evalúa el efecto del consumo de espirulina en el perfil de ácidos grasos en el hígado de ratas Holtzman gestantes-lactantes en paralelo con ratas vírgenes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Treinta ratas hembras Holtzman con doce semanas de edad y un peso de 224 $\pm$ 15 g, fueron suministradas por el Bioterio del Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA), Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Las ratas fueron colocadas en jaulas colectivas y luego en jaulas individuales en una sala del Bioterio del LENA, en la que se controló la temperatura (23,4 $\pm$ 1,05 °C) y la humedad relativa del ambiente (65,4 $\pm$ 4,80%) y ciclo luz/oscuridad de 12 h.

El trabajo se realizó de acuerdo al Código de ética para la investigación científica de la UNALM (Res. N°0285-2016-CU-UNALM). Todos los procedimientos se realizaron según las normas de Ley de Animales del Reino Unido (Procedimientos Científicos) de 1986 y las directrices asociadas de la Directiva de la Unión Europea 2010/63/UE para experimentos con animales.

Dietas

Los animales se distribuyeron aleatoriamente en 3 tratamientos: control (100% de dieta estándar), 5% (95% de dieta estándar y 5% de espirulina) y 10% (90% de dieta estándar y 10% de espirulina).

En un estudio donde se utilizaron diferentes dosis de espirulina en polvo (0 a 15%), no hubo efectos tóxicos o estrés oxidativo en ratas hembras adultas tratadas hasta con 5%. Con las dosis más altas, se observó toxicidad, diarrea y crecimiento reducido de las crías, pero no fue letal para las ratas²². Se decidió utilizar la dosis segura más alta (5%) y una dosis alta (10%) para ver cuál era el efecto.

La dieta estándar fue una dieta isocalórica e isoproteica que contenía 18 g de proteína, 8,88 g de grasa, 7,20 g de fibra y 70,4 g de carbohidratos por cada 100 g de peso seco; preparada regularmente por el Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos de la UNALM.

La espirulina (*Arthrospira platensis*) en polvo se obtuvo del comercio local The Environment Solutions Company S.A.C.-SUMAQ PET®. Fue producida a pequeña escala, en canastas verticales con un medio de cultivo hidropónico y en condiciones de invernadero en la ciudad de Lima, Perú. Su composición química se determinó mediante método de la AOAC²³ al igual que el perfil de lípidos²⁴, datos que se observan en la tabla 1. La composición de la dieta estándar se mantuvo y se mezcló con espirulina en las proporciones indicadas para cada tratamiento.

Tabla 1. Composición química y perfil de ácidos grasos de la espirulina en polvo.

Componentes	%
Materia seca	91,2
Proteína	55,4
Grasa	4,81
Fibra cruda	0,11
Cenizas	16,9
Extracto libre de nitrógeno	13,9
Perfil de ácidos grasos	g/100g
C14:0	0,014
C14:1	0,019
C16:0	1,75
C16:1	0,300
C18:0	0,051
C18:1 n- 9	0,069
C18:2 n-6	0,854
C18:3 n-3	0,012
C18:3 n-6	1,19
C20:3 n-6	0,020
n-3	0,010
n-6	2,07
n-9	0,070
Total AGS	1,82
Total AGMI	0,399
Total AGPI	2,08

C14:0= Ácido Mirístico. C14:1= Ácido Miristoleico. C16:0= Ácido Palmítico. C16:1= Ácido Palmitoleico. C18:0= Ácido Estearico. C18:1 n-9= Ácido Oleico. C18:2 n-6 = Ácido Linoleico (AL). C18:3 n-3= Ácido-a-Linoleico (ALA). C18:3 n-6= Ácido-g-Linolenico (GLA). C20:3 n-6= Ácido Dihomo-g-Linolenico. n-3= omega 3. n-6= omega 6- n-9= omega 9. AGS= Ácidos grasos saturados. AGMI= Ácidos grasos monoinsaturados. AGPI= Ácidos grasos poliinsaturados.

Protocolo experimental

La mitad de las ratas hembras se aparearon con machos adultos de la misma línea genética en jaulas metálicas colectivas (el día 0 de gestación se determinó cuando se encontraron espermatozoides en los frotis vaginales), mientras que la otra mitad se mantuvo virgen. Desde el primer día de gestación, las ratas fueron asignadas a un tratamiento; entre el cuarto y quinto día posparto, el tamaño de la camada se homogeneizó a 5 ó 6 crías. Los animales fueron alimentados y bebieron agua a voluntad, alojados en jaulas metálicas individuales (21x17x24 cm), el consumo de alimentos se registró diariamente y el peso de las ratas y sus crías se registró semanalmente.

Entre los días 13 y 16 de lactancia, las madres lactantes fueron sacrificadas por dislocación cervical después de 12 h de ayuno nocturno posterior a la aplicación de anestesia con una dosis de ketamina/xilazina (40-90 mg/kg y 10-15 mg/kg) aplicada por vía intraperitoneal. Los hígados y la grasa visceral fueron removidos y pesados; una porción del hígado se colocó en viales criogénicos previamente identificados y se congelaron en nitrógeno líquido hasta el análisis. Las ratas vírgenes recibieron el mismo tratamiento y siempre se estudiaron en paralelo.

Análisis de ácidos grasos hepáticos

El análisis se realizó en el Laboratorio de Bioquímica y Análisis Instrumental del Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la UNALM.

La grasa del hígado se extrajo siguiendo el método de Folch et al.²⁵ con cloroformo: metanol (2:1 v/v). Los ésteres metílicos de ácido graso (FAME) se prepararon a partir de las muestras de grasa mediante la adición de 3 ml de NaOH al 1% en metanol. Luego, los tubos se colocaron en un baño de agua a 80 °C durante 1 hora, se añadieron 2 ml de BF₃ y los tubos se incubaron a la misma temperatura durante 15 min más. Se añadieron 3 ml de CH₂Cl₂ y se mezclaron en un agitador vórtex durante 1 minuto. Los tubos se centrifugaron a 2.000 rpm durante 10 min, el sobrenadante se separó y las operaciones se repitieron a partir de la adición de CH₂Cl₂. El segundo sobrenadante se separó, los sedimentos de la primera y segunda centrifugación se combinaron en un vial de 10 ml, y el volumen se completó con CH₂Cl₂ y se almacenó a -80 °C hasta el análisis respectivo.

La composición de ácidos grasos se determinó por cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) usando una columna J&W 59292-06 (código: Rt-2560), las condiciones fueron las siguientes: temperatura del horno 250 °C (programado a 100 °C por 4 min, después de 3 °C/min hasta llegar a 240 °C y permaneciendo allí durante 25 min), temperatura del inyector 225 °C (modo dividido - 10: 1) y temperatura del detector 250 °C (señal de 50 Hz). La velocidad de flujo del gas portador (Nitrógeno) fue de 1,9 ml/min y se inyectó 1 µl de solución (10µl de volumen de la jeringa, se lavó 5 veces con disolvente antes y después

de la inyección). La identificación de FAME se obtuvo mediante cromatografía con estándares FAME auténticos, disponibles comercialmente y relaciones de tiempo de retención. Los contenidos de ácido graso (g/100 g de hígado) se cuantificaron mediante la comparación de áreas de pico entre una cantidad conocida de estándar interno agregado y el peso de la muestra.

Relación producto/precursor de las enzimas de elongación e insaturación de ácidos grasos en el hígado

Algunas proporciones de productos y precursores se utilizaron como índices sustitutos de enzimas hepáticas utilizando las siguientes fórmulas²⁶:

Δ6 elongasa-desaturasa:

(a) Ácido docosahexaenoico /ácido linolénico (C22:6 n-3/C18:3 n-3)

(b) Ácido araquidónico/ácido linoleico (C20:4 n-6 / C18:2 n-6)

Estearoil-CoA: ácido palmitoleico/ácido palmítico (C16:1 n-7/C16:0)

Oleoil-CoA: ácido oleico/ácido esteárico (C18:1 n-9/ C18:0)

Δ5D: ácido araquidónico / ácido eicosatrienoico (C20: 4 n-6 / C20: 3 n-6)

Δ6D: ácido gamma-linolénico /ácido linoleico (C18:3 n-6/C18:2 n-6)

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico SAS 9.1. Todos los resultados se presentaron como media±desviación estándar (DE). Los datos fueron analizados bajo el diseño completamente al azar (DCA). La distribución normal de los datos se analizó con la prueba de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de la varianza con la prueba de Levene. El efecto de los tratamientos se analizó con un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y las diferencias entre medias se estimaron mediante la prueba de comparación múltiple de Tukey. Cuando los datos no mostraron una distribución normal, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis por rangos. El nivel de significación utilizado en los análisis fue p<0.05.

RESULTADOS

Consumo de alimento

En ratas gestantes-lactantes, la ingesta de alimentos aumentó semana a semana para todos los tratamientos y fue directamente proporcional al porcentaje de espirulina en la dieta. Los valores fueron similares hasta la semana tres (p<0,05), luego aumentó en más de 10 g en la semana cuatro y se volvió más del doble en la semana cinco, donde se encontraron los valores más altos (p<0,05). Sin embargo, las ratas vírgenes mantuvieron su ingesta de alimento durante las cinco semanas; la espirulina no tuvo ningún efecto como se observa en la tabla 2.

Evolución del peso corporal

Como se muestra en la tabla 3, el peso corporal de las ratas adultas cambió semana a semana en ambos grupos, pero la espirulina no tuvo efecto significativo. El cambio en el peso corporal fue diferente en ambos grupos. En ratas gestantes-lactantes, el peso corporal aumentó sustancialmente hacia la semana tres (última semana de gestación), luego disminuyó a un nivel similar a la semana dos (después del nacimiento) y finalmente aumentó nuevamente hacia la semana cinco durante

la lactancia. El peso corporal de ratas vírgenes solo aumentó progresivamente.

El peso de la descendencia aumentó desde el nacimiento hasta el destete. Se observaron diferencias significativas ($p<0,05$) entre los tratamientos al nacer y durante el período de lactancia, pero no en el momento del destete. Al nacer, las crías de las ratas que recibieron 10% de espirulina tuvieron un peso mayor ($p<0,05$). Además, en las semanas de lactancia se presentaron diferencias con el control ($p<0,05$; tabla 4).

Tabla 2. Consumo de alimento semanal (g) de ratas vírgenes y gestantes-lactantes de acuerdo al porcentaje (%) de espirulina en la dieta.

Semana	Vírgenes			Gestantes-lactantes		
	Control n= 5	5% espirulina n= 5	10% espirulina n= 5	Control n= 5	5% espirulina n= 5	10% espirulina n= 5
1*	17,4 ± 2,06 ^a	18,2 ± 0,19 ^a	18,6 ± 1,61 ^a	17,1 ± 0,89 ^a	19,4 ± 2,04 ^a	21,1 ± 3,21 ^a
2	17,3 ± 1,08 ^a	18,6 ± 0,68 ^a	17,7 ± 2,95 ^a	19,6 ± 0,71 ^b	21,2 ± 1,18 ^{ab}	24,1 ± 2,77 ^a
3*	17,2 ± 2,76 ^a	18,7 ± 0,44 ^a	18,0 ± 1,82 ^a	22,1 ± 2,26 ^a	22,1 ± 2,12 ^a	23,0 ± 2,73 ^b
4	17,3 ± 1,40 ^a	18,7 ± 0,68 ^a	18,2 ± 1,89 ^a	33,8 ± 5,74 ^a	33,7 ± 3,42 ^a	38,0 ± 3,48 ^a
5	18,3 ± 1,65 ^a	18,9 ± 0,69 ^a	18,8 ± 1,00 ^a	44,9 ± 2,08 ^a	46,4 ± 2,31 ^{ab}	47,1 ± 1,35 ^b

Valores representados con promedio ± DE.

^{a-b}: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p<0,05$).

*ANOVA de una vía (Prueba de Tukey). Los demás con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Tabla 3. Evolución del peso corporal (g) de ratas vírgenes y gestantes-lactantes de acuerdo con el porcentaje (%) de espirulina en la dieta.

Semana	Vírgenes			Gestantes-lactantes		
	Control n= 5	5% espirulina n= 5	10% espirulina n= 5	Control n= 5	5% espirulina n= 5	10% espirulina n= 5
1	243±8,27 ^a	230±7,02 ^a	221±13,4 ^a	227±8,01 ^a	243±18,5 ^a	241±11,0 ^a
2	252±12,5 ^a	250±8,79 ^a	231±17,0 ^a	249±10,5 ^a	262±22,4 ^a	272±17,8 ^a
3	260±13,7 ^a	263±0,480 ^a	253±23,3 ^a	299±32,4 ^a	313±40,8 ^a	332±33,1 ^a
4	269±15,4 ^a	268±2,91 ^a	254±21,1 ^a	260±18,3 ^a	272±13,2 ^a	268±14,8 ^a
5	275±15,9 ^a	268±4,28 ^a	260±23,4 ^a	276±20,8 ^a	291±15,4 ^a	286±16,0 ^a

Valores representados con promedio±DE.

^{a-b}: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p<0,05$; prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis).

Tabla 4. Peso corporal (g) de las crías desde el nacimiento hasta el destete de acuerdo con el porcentaje (%) de espirulina en la dieta de la madre.

Semana	Tratamientos		
	Control n= 30	5% espirulina n= 30	10% espirulina n= 25
Nacimiento	6,17±0,11 ^b	6,06±0,26 ^b	6,95±0,65 ^a
Primera semana de lactancia	13,2±1,56 ^a	11,6±1,49 ^a	10,7±1,50 ^b
Segunda semana de lactancia	19,6±1,91 ^b	21,8±2,09 ^a	22,0±1,63 ^a
Destete	27,2±2,66 ^a	29,5±1,84 ^a	29,4±1,27 ^a

Valores representados con promedio±DE.

^{a-b}: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p<0,05$; prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis).

Peso de los tejidos

Como se muestra en la tabla 5, la espirulina tuvo el efecto opuesto sobre el peso del hígado y el de la grasa visceral para las ratas vírgenes y gestantes-lactantes respectivamente. El peso de la grasa visceral en las ratas vírgenes presentó diferencias ($p<0,05$) entre el tratamiento al 5% y el 10%, siendo menor con un mayor porcentaje de espirulina. Sin embargo, no mostró ninguna diferencia en las ratas gestantes-lactantes. En el caso del peso del hígado, las ratas vírgenes no presentaron ninguna diferencia entre tratamientos pero las ratas gestantes-lactantes mostraron diferencias entre el tratamiento control y al 5%, en este último, el peso fue menor ($p<0,05$).

Perfil de ácidos grasos y relación producto/precursor de las enzimas de elongación e insaturación en el hígado

Los ácidos grasos identificados en el hígado (tabla 6) fueron: ácidos palmítico, esteárico, oleico, AL, ARA y

DHA. Los ácidos esteárico (C18:0) y araquidónico (C20:4) estaban en concentraciones más altas y el ácido oleico (C18:1) y DHA (C22:6), más bajas. En ambos grupos, las ratas control presentaron menos concentración de ácidos grasos pero solo se observaron diferencias significativas en ratas gestantes-lactantes para AGPI n-6 y AGS ($p<0,05$). El ácido gamma linolénico (GLA) no se encontró en el hígado a pesar de estar presente en la espirulina. Lo contrario sucedió con el DHA, que se detectó en el hígado y no en la espirulina.

Según los resultados del perfil de ácidos grasos, se calculó la de relación producto/precursor de las enzimas Δ -6-elongasa-desaturasa y Oleyl-CoA (tabla 6). El resultado para Δ -6-elongasa-desaturasa fue mayor en las ratas vírgenes y la de Oleyl-CoA en las ratas gestantes-lactantes. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en ambos grupos.

Tabla 5. Peso del hígado y la grasa visceral (g/100g peso corporal al momento de la eutanasia) de ratas vírgenes y gestantes-lactantes de acuerdo al porcentaje (%) de espirulina en la dieta.

Tejido	Vírgenes			Gestantes-lactantes		
	Control n= 5	5% espirulina n= 5	10% espirulina n= 5	Control n= 5	5% espirulina n= 5	10% espirulina n= 5
Hígado	3,57±0,62 ^a	3,48±0,41 ^a	3,66±0,24 ^a	4,66±0,42 ^a	3,81±0,50 ^b	4,10±0,23 ^{ab}
Grasa visceral	2,76±0,27 ^{ab}	3,20±0,25 ^a	2,27±0,46 ^b	1,93±0,58 ^a	2,23±0,47 ^a	2,30±0,76 ^a

Valores representados con promedio±DE.

^{a-b}: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p<0,05$; prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis).

Tabla 6. Perfil de ácidos (g/100g de hígado) y relación producto/precursor en el hígado de ratas vírgenes y gestantes-lactantes según en porcentaje (%) de espirulina en la dieta.

Ácido graso	Vírgenes			Gestantes-lactantes		
	Control n= 3	5% espirulina n= 3	10% espirulina n= 5	Control n= 4	5% espirulina n= 5	10% espirulina n= 4
C16:0	0,302±0,015a	0,366±0,075a	0,398±0,073a	0,312±0,024a	0,372±0,047a	0,353±0,100a
C18:0	0,404±0,071a	0,454±0,118a	0,447 ±0,146a	0,325±0,054a	0,398±0,024a	0,487±0,070a
C18:1 n-9	0,121±0,006a	0,137±0,021a	0,161±0,045a	0,182±0,041a	0,183±0,017a	0,182±0,001a
C18:2 n-6	0,283± 0,014a	0,273±0,072a	0,356±0,108a	0,261±0,033b	0,380±0,037a	0,367±0,046a
C20:4 n-6	0,427±0,071a	0,474±0,140a	0,459±0,146a	0,285±0,019b	0,405±0,018ab	0,427±0,097a
C22:6 n-3	0,143±0,016a	0,150±0,017a	0,115±0,034a	0,094±0,011a	0,068±0,029a	0,091±0,018a
n-3	0,143±0,016a	0,150±0,017a	0,115±0,034a	0,094±0,011a	0,068±0,029a	0,091±0,046a
n-6	0,710±0,044a	0,747±0,078a	0,816±0,090a	0,475±0,015b	0,785±0,024a	0,794±0,057a
n-9	0,121±0,006a	0,137±0,021a	0,161±0,045a	0,182±0,041a	0,183±0,017a	0,182±0,001a
AGS	0,705 ±0,043a	0,820±0,096a	0,844 ±0,110a	0,637±0,039b	0,770±0,030a	0,840±0,080a
AGMI	0,121 ±0,006a	0,137±0,021a	0,161±0,045a	0,182±0,041a	0,183±0,017a	0,182±0,001a
AGPI	0,852 ±0,034a	0,897±0,076a	0,931±0,096a	0,568±0,021b	0,852±0,028a	0,885±0,054a
Relación producto/precursor de las enzimas						
Oleil-CoA	0,302±0,038a	0,312±0,068a	0,339±0,049a	0,577±0,186a	0,461±0,046a	0,431±0,113a
Δ-6-elongase-desaturase	1,50±0,177a	1,58±0,038a	1,40±0,163a	1,10±0,164a	1,06±0,064a	1,15±0,167aa

Valores representados con promedio±DE.

^{a-b}: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (p<0,05, prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis).

DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación indican que, tras la suplementación con espirulina, hubo una mayor concentración de AGPI n-6 (AL y ARA) y AGS (ácidos esteárico y palmítico) en comparación con AGMI (ácido oleico) y AGPI n-3 (DHA) y en ratas gestantes-lactantes y vírgenes; los cambios en los valores de AGPI n-6 y AGS en ratas gestantes-lactantes fueron significativos independientemente del porcentaje de suplementación.

El 43% del contenido de total de ácidos grasos de la espirulina correspondía a AGPI n-6 (24,8% GLA y 17,6% AL); el 37, 9% a AGS (36,5% de ácido palmítico) y 0,21% a AGPI n-3 (solamente ALA). El ácido palmítico que aporta la espirulina puede ser transformado a ácido oleico por la ruta de AGS, luego de procesos de elongación y desaturación²⁷; este ácido graso es importante durante la lactancia porque participa en la formación, desarrollo, transporte y metabolismo del cerebro; y se asocia a un riesgo reducido de enfermedad

coronaria, riesgo cardiometabólico, diabetes tipo 2 e hipertensión, cáncer de mama y colorrectal²⁸. El aumento de la concentración de AA en el hígado se debió principalmente al GLA y no al AL proveniente de la espirulina. El GLA puede tener un mayor biopotencial comparado con AL en la vía metabólica de los AGPI n-6, el GLA se alarga rápidamente a dihomo-γ-linolénico (DGLA) y es desaturado a AA por Δ5D²⁹. Quoc y Pasucad³⁰ mencionan que las dietas ricas en GLA tienen un efecto directo sobre la concentración de AA, manteniéndolo estable y mostrando su resistencia al cambio. Es importante mencionar que el GLA es un ácido graso prometedor al ser el precursor de mediadores en la inflamación, procesos inmunes y participa en la prevención de enfermedades inflamatorias crónicas y cánceres. El GLA ha demostrado aumento en la termogénesis a través de la regulación positiva de la proteína desacoplante en el tejido adiposo marrón y la reducción del tejido adiposo blanco²⁹; regula la expresión génica de células cancerosas en la mama

y atenúa el síndrome de ovario poliquístico estimulado por la dehidroepiandrosterona vía la señalización PPAR- γ en ambos casos³¹. Con respecto al contenido de EPA y DHA, Kim et al⁹ mencionan que dietas con altas concentraciones de AL y en AGS, disminuyen los niveles plasmáticos de EPA y DHA en comparación con dietas bajas en AL y AGS respectivamente. Por su parte, Rincón- Cervera et al⁸ indican que al no haber contribución de DHA en la dieta, la administración de ALA aumenta significativamente la síntesis de DHA en el cerebro de la rata para asegurar un mínimo de acumulación de DHA para el cerebro. Lo anterior indicaría que la ausencia del EPA hepático podría deberse a la prioridad de formar DHA, a partir de ALA, al no tenerla como una fuente directa de la dieta de la madre¹² y no al contenido de AL o AGS en la dieta. La ingesta de DHA es importante por sus beneficios neuroprotectores pero no debe consumirse en exceso ya que puede conducir a la pérdida de homeostasis neuronal y producir deterioro cognitivo mediante la interacción con el sistema endocannabinoides¹⁰.

El tiempo de experimentación es un factor importante en estos estudios, puede no evidenciarse cambios en el perfil de ácidos grasos, sin embargo, se ha reportado efecto hepatoprotector y la disminución en el nivel de triglicéridos, principalmente cuando se desarrollaron por una semana o menos tiempo³². Las diferencias en las concentraciones de ácidos grasos en el hígado dependen del contenido de lípidos totales en la dieta, del comportamiento metabólico del ácido graso y de su destino final³³.

La relación de producto/precursor de las enzimas está limitada por los ácidos grasos que se detectaron mediante la cromatografía. De acuerdo a los índices sustitutivos calculados, se observaron niveles bajos de las enzimas Δ -6-elongasa-desaturasa y Oleyl-CoA, menos de 1,90 y 3,04 respectivamente, asociados al mecanismo de protección para evitar el exceso de ácidos grasos peroxidables y oxiesteroles en el hígado en el primer caso y la composición de la grasa hepática total en el segundo, por la inhibición parcial de la transformación de ALA a EPA y DHA o AL a ARA²⁶.

La suplementación con espirulina aumenta³⁴ o disminuye³⁵ la ingesta de alimentos y se asocia con su papel en la regulación del apetito^{35,36}. La espirulina reduce los niveles de leptina²⁵, produciendo una regulación positiva de los factores orexigénicos, especialmente en la lactancia, donde la ingesta adecuada de energía es necesaria para el desarrollo de la descendencia³⁷. Su contenido de fenilalanina influye en el proceso, promoviendo la liberación de colecistoquinina (CCK) en el cerebro³⁶. A pesar del aumento de la ingesta, no se observó ningún cambio en el peso. En otros estudios con espirulina, los autores encontraron que el peso no variaba³⁸ independientemente de la dosis y lo asociaron con la recuperación nutricional¹⁹. Los resultados de peso del hígado no se asocian a un menor peso corporal como lo reporta Fujimoto et al³⁵. Por su parte, Yang et al²⁹ demuestran que la ingesta de espirulina reduce la acumulación de lípidos en el hígado como se observó en el peso del hígado de ratas gestantes-lactantes con suplementación del 5%. Sixabela

et al³⁹ afirman que la acumulación de grasa aumenta de forma directa con la ingesta de espirulina, los resultados muestran lo contrario en el caso de las ratas vírgenes. Por lo tanto, la ingesta de espirulina no está asociada con el crecimiento (promoción o retraso) de ningún órgano³⁹.

Contrario a lo anterior, el peso corporal de la descendencia no siguió el mismo patrón. Existe una correlación lineal entre los triglicéridos plasmáticos del feto y la madre, la cual cumple un papel importante en el peso al nacer⁴⁰. Por lo tanto, el peso al nacer de la descendencia de las ratas que recibieron el tratamiento al 10% fue mayor y las madres mostraron una mayor concentración de ácidos grasos. Cabe resaltar que el alto contenido de AGPI n-6 proporcionados por la espirulina y el aumento de AGS que se muestra en el hígado hubiese podido alterar el desarrollo y la vitalidad de los fetos, lo que se hubiese visto reflejado en un bajo peso al nacer⁴¹. El efecto del consumo de la espirulina no solo puede atribuirse a los ácidos grasos, el contenido de proteína de la espirulina (55,4%) puede combatir, de la misma forma, los trastornos que surgen de la deficiencia o insuficiencia nutricional. En casos de desnutrición proteica materna, la administración de espirulina a las madres, evidenció una respuesta inmunitaria e inflamatoria positiva, la prevención de los efectos deletéreos de la respuesta inmunitaria hiperactiva, mejora de reflejos neurológicos, aprendizaje espacial y memoria y una mayor fuerza neuromuscular en la progenie F1³. Enriquecer el entorno con una fuente potente de proteína como esta, reduce de forma eficaz el estrés oxidativo, la neuroinflamación, el déficit conductual y el cognitivo y otras anomalías por restricción de crecimiento intrauterino². Contrarrestar condiciones durante la gestación y lactancia, evitará la modificación de factores de transcripción como ocurre con la reducción de la metilación de los genes PPAR α en el hígado de la descendencia; los PPAR son determinantes durante el embarazo (implantación, placenta y diferenciación de trofoblastos), la programación fetal, el desarrollo en los primeros años de vida y el riesgo de enfermedades no transmisibles durante la edad adulta¹¹.

Existen otros nutrientes que están involucrados e influyen en el metabolismo de ácidos grasos, la programación fetal, y las características durante la gestación y lactancia. Castaño-Moreno et al⁴² reportan que la ingesta inadecuada de folatos y la vitamina B₁₂ afecta el metabolismo de lípidos de las madres y sus crías. Cuando ocurre una alteración en un ciclo de carbono de la madre, los patrones de metilación de DNA se verán directamente afectados a través de cambios en la expresión de genes implicados en la función y desarrollo de la placenta. Se observaron niveles disminuidos de ácidos grasos (AGS, AGMI, AGPI y AGPI-CL) en el hígado de las madres y un aumento en el de las crías, relacionado a la actividad de las enzimas Δ 5D y Δ 6D. En otro caso, Reyna et al.¹³ presenta el efecto de las antocianinas del extracto de maíz morado en la glándula mamaria durante la lactancia; el cual incrementa la expresión génica de SREP-1 (lipogénesis) y Δ 5D y Δ 6D,

lo que indicaría que los ácidos grasos de leche materna se sintetizan en este mismo tejido.

Las limitaciones de este estudio fueron el análisis de ácidos grasos solo en el hígado y analizar básicamente características de las madres sin la obtención de más información de las crías. Se tendría que completar la investigación, evaluando el tejido adiposo y la glándula mamaria de las madres y el cerebro de las crías. Se recomienda evaluar si la suplementación con espirulina tuviera un efecto diferente si se administrase antes del embarazo, si hubiese algún efecto en la etapa de la vida adulta de la descendencia y la suplementación de la espirulina en casos de obesidad, sobrepeso o desnutrición materna.

En conclusión, tras la suplementación con espirulina, aumentó la concentración de AGPI n-6 y AGS sin modificar los AGPI n-3 y AGMI en el hígado de ratas gestantes-lactantes independientemente del porcentaje de suplementación y sin influir significativamente en ratas vírgenes. No se observó efecto en la relación producto/precursor de las enzimas de elongación e insaturación de AG. El mayor porcentaje de espirulina (10%) aumentó el apetito de las ratas madres y sus crías tuvieron un mayor peso al nacer, sin modificar el peso corporal en ningún grupo, aunque hubo un efecto sobre el peso del hígado en ratas gestantes-lactantes y en grasa visceral para ratas vírgenes con un nivel medio de espirulina (5%). El consumo de espirulina en las ratas gestantes-lactantes, mejora el perfil AGPI n-6 hepático, aumenta su apetito y el peso de las crías al nacer sin influir en el peso de las madres.

Agradecimientos: Las autoras agradecen a todos los colaboradores de la UNALM.

Financiamiento: Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT) del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC), Convenio de Gestión N° 183-2015 FONDECYT de proyecto EPG N° 677/2017.

REFERENCIAS

- Hendrixson DT, Koroma AS, Callaghan-Gillespie M, Weber J, Papathakis P, Manary MJ. Use of a novel supplementary food and measures to control inflammation in malnourished pregnant women in Sierra Leone to improve birth outcomes: study protocol for a prospective, randomized, controlled clinical effectiveness trial. *BMC Nutr.* 2018; 4: 15-26.
- Sinha S, Patro N, Patro IK. Maternal Protein malnutrition: Current and future perspectives of spirulina supplementation in neuroprotection. *Front Neurosci.* 2018; 12: 966
- Sinha S, Patro N, Timari PK, Patro IK. Maternal Spirulina supplementation during pregnancy and lactation partially prevents oxidative stress, glial activation and neuronal damage in protein malnourished F1 progeny. *Neurochem Int.* 2020; 141: 1-52.
- Gómez BD, Sepúlveda JU, Alzate AF, Herrera JM, Rojano BA. Oxidative, sensory and fatty acid profile evaluation of a yogurt with docosahexaenoic acid (DHA) extracted from microalgae oil. *Rev Chil Nutr.* 2020; 47: 568-579.
- Mennitti LV, Oliveira JL, Morais CA, Estadella D, Oyama LM, Oller do Nascimento CM et al. Type of fatty acids in maternal diets during pregnancy and/or lactation and metabolic consequences of the offspring. *J Nutr Biochem.* 2015; 26: 99-111.
- López-Soldado I, Ortega-Senovilla H, Herrera E. Maternal adipose tissue becomes a source of fatty acids for the fetus in fasted pregnant rats given diets with different fatty acid compositions. *Eur J Nutr.* 2017; 10: 1-12.
- Oaks BM, Young PR, Adu-Afaruwah S, Ashorn U, Jackson KH, Lartey A et al. Effects of a lipid-based nutrient supplement during pregnancy and lactation on maternal plasma fatty acid status and lipid profile: Results of two randomized controlled trials. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids.* 2017; 117: 28-35.
- Rincón-Cervera MA, Valenzuela R, Hernandez-Rodas MA, Barrera C, Espinoza A, Marambio M et al. Vegetable oils rich in alpha linolenic acid increment hepatic n-3 LCPUFA, modulating the fatty acid metabolism and antioxidant response in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids.* 2016; 111: 25-35.
- Kim D, Choi JE, Parck Y. Low-linoleic acid diet and oestrogen enhance the conversion of α -linolenic acid into DHA through modification of conversion enzymes and transcription factors. *Brit J Nutr.* 2019; 121: 137-145.
- Orellana P, Valenzuela R, Valenzuela A, Morales G. Neuroprotective effects of arachidonic and docosahexaenoic acid in the extreme stages of life: An integrative view. *Rev Chil Nutr.* 2018; 45: 80-88.
- Echevarría F, Ortiz M, Valenzuela R, Videla LA. Long-chain polyunsaturated fatty acids regulation of PPARs, signaling: Relationship to tissue development and aging. *Prostaglandins, Leukot Essent Fat Acids.* 2016; 114: 28-34.
- Sánchez González R, Rodríguez-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.* 2017; 549: 7-23.
- Reyna S, Gonzáles C, Valenzuela R, Villanueva ME. Effect of purple corn extract on gene expression of *srebp-1*, $\Delta 5d$ and $\Delta 6d$ in mammary gland of nursing rats supplemented with chia oil (*Salvia Hispánica L.*). *Rev Chil Nutr.* 2016; 43: 296-302.
- Berti C, Cetin I, Agostoni C, Desoye G, Devlieger R, Emmett PM et al. Pregnancy and infants' outcome: nutritional and metabolic implications. *Crit Rev Food Sci.* 2016; 56: 82-91.
- Caporgno MP, Mathys A. Trends in microalgae incorporation into innovative food products with potential health benefits. *Front Nutr.* 2018; 5: 1-10.
- Yüçetepe A, Övelik B. Bioactive Peptides Isolated from Microalgae *Spirulina platensis* and their Biofunctional Activities. *Akademik Gıda.* 2016; 14: 412-417.
- Kashami A, Behrens Holman BW, Nichols PD, Malau-Aduli AEO. Effect of level of Spirulina supplementation on the fatty acid compositions of adipose, muscle, heart, kidney and liver tissues in Australian dual-purpose lambs. *Ann Anim Sci.* 2015; 15: 945-960.
- El-Rahman GIA. Evaluation the efficacy of combined mixture of *Spirulina Platensis* and cinnamon extracts in overweight rats fed on a fatty diet. *Life Sci.* 2018; 15: 37-46.
- Bléyé M. Spiruline on growth and hematological parameters of rats. *J Med Pract Rev.* 2018; 2: 318-325.
- Siva Kira RR, Madhu GM, Satyanarayana SV. Spirulina in combating protein energy malnutrition (PEM) and protein energy wasting (PEW) - A review. *J Nut Res.* 2015; 3: 62-79.
- Li TT, Liu YY, Wan XZ, Huang ZR, Liu B, Zhao C. Regulatory

- efficacy of the polyunsaturated fatty acids from microalgae *Spirulina platensis* on lipid metabolism and gut microbiota in high-fat diet rats. *Int J Mol Sci.* 2018; 19: 3075-3089.
22. Gargouri M, Ben Saad H, Ben Amara I, Magné C, El Feki A. *Spirulina* exhibits hepatoprotective effects against lead induced oxidative injury in newborn rats. *Cell Mol Biol.* 2016; 62: 85-93.
 23. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis.* 18 th ed. The Association, Washington, D.C., 2006, p 30.
 24. Association of Official Agricultural Chemists. AOAC-996.06, C41: Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in: *Foods Hydrolytic Extract Extraction Gas Chromatographic Method.* 20 th ed. The Association, Washington, D.C., 2016, p. 20.
 25. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 1957; 226: 497-509.
 26. González-Torres L, Matos C, Vázquez-Velasco M, Santos-López JA, Sánchez-Martínez I, García-Fernández C et al. Glucomannan- and glucomannan plus spirulina enriched pork affect liver fatty acid profile, LDL receptor expression and antioxidant status in Zucker fa/fa rats fed atherogenic diets. *Food Nutr Res.* 2017; 61: 1-15.
 27. Perris PD, Silva C, Fernández J, Mambrin MC, Slobodianik NH, Feliu, MS. Diets with different lipid sources: Their effect on fatty acid serum profile of the rat. *Rev Chil Nutr.* 2014; 41: 292-296.
 28. Muhrihan A, Citrakusumasari1, Djide N, Sirajuddin S, Jafar N, Naiem F. Differences of oleic acid levels in breast milk of lactating mothers with chronic energy deficiency (CED) and normal status. *JSRMBS.* 2020; 1: 161-170.
 29. Yang Y, Du L, Hosokawa M, Miyashita K. Effect of *Spirulina* lipids on high-fat and high-sucrose diet induced obesity and hepatic lipid accumulation in C57BL/6J mice. *J Funct Foods.* 2020; 65: 1-9.
 30. Quoc KP, Pascaud M. Effects of dietary gamma-linolenic acid on the tissue phospholipid fatty acid composition and the synthesis of eicosanoids in rats. *Ann Nutr Metab.* 1996; 40: 99-108.
 31. Prabhu YD, Gopalakrishnan AV. γ -Linolenic acid ameliorates DHEA induced pro-inflammatory response in polycystic ovary syndrome via PPAR- γ signaling in rats. *Reprod Biol.* 2020; 20: 348-356.
 32. Torres-Durán PV, Paredes-Carbajal C, Mascher D, Zamora-González J, Díaz-Zagoya JC, Juárez-Oropeza MA. Protective effect of *Arthrospira maxima* on fatty acid composition in fatty liver. *Arch Med Res.* 2006; 37: 479-483.
 33. Vieira De Melo I, Ataíde T, Lima De Oliveira S, Bezerra Bueno N, Duarte de Freitas J, Goulart Sant'Ana AE. Hepatic fatty acid profile of rats fed a triheptanoin-based ketogenic diet. *Nutr Hosp.* 2015; 32: 265-269.
 34. Araújo K, Facchinetti A, Santos C. Influence of consumption of spirulina (*Arthrospira* sp.) biomasses on body weight and food intake in rats. *Cienc Tecnol Aliment.* 2003; 23: 6-9.
 35. Fujimoto M, Tsuneyama K, Fujimoto T, Selmi C, Gershwin ME, Shimada Y. *Spirulina* improves non-alcoholic steatohepatitis, visceral fat macrophage aggregation, and serum leptin in a mouse model of metabolic syndrome. *Dig Liver Dis.* 2012; 44: 767-774.
 36. Yousefi R, Mottaghi A, Saidpou A. *Spirulina platensis* effectively ameliorates anthropometric measurements and obesity-related metabolic disorders in obese or overweight healthy individuals: A randomized controlled trial. *Complement Ther Med.* 2018; 40: 106-112.
 37. Johnstone L, Higuchi T. Chapter 15: Food intake and leptin during pregnancy and lactation. *Prog Brain Res.* 2001; 133: 215-227.
 38. Bertolin TE, Pilatti D, Giacomini AC, Vendrametto V, Bavaresco C, Serra CL et al. Effect of microalga *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) on hippocampus lipoperoxidation and lipid profile in rats with induced hypercholesterolemia. *Braz Arch Biol Technol.* 2009; 52: 1253-1259.
 39. Sixabela PSS, Chivandi E, Badenhorst M, Erlwanger KH. The effects of dietary supplementation with *Spirulina platensis* in growing rats. *Asian J Anim Vet Adv.* 2011; 6: 1-9.
 40. Hapon MB, Varas SM, Jahn GA, Giménez MS. Effects of hypothyroidism on mammary and liver lipid metabolism in virgin and late-pregnant rats. *J Lipid Res.* 2005; 46: 1320-1330.
 41. Meher A, Randhir K, Mehendale S, Wagh G, Joshi S. Maternal fatty acids and their association with birth outcome: A prospective study. *PLoS One.* 2016; 11: 1-14.
 42. Castano-Moreno E, Castillo V, Penailillo R, Llanos MN, Valenzuela R, Ronco AM. Fatty acid and lipid metabolism in liver of pregnant mice and their offspring is influenced by unbalanced folates/vitamin B12 diets fatty acid and lipid metabolism in liver of pregnant mice and their offspring is influenced by unbalanced folates/vitamin B12 diets. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids.* 2020; 154: 1-9.