

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE DE PESCADO EN EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DEL PLASMA SEMINAL OVINO

Effect of supplements fish oil on fatty acid profile of seminal plasma of ram

J. Quiñones¹, R. Díaz¹, S. Bravo², N. Sepúlveda³

<http://dx.doi.org/10.18548/aspe/0002.17>

¹ *Magister, Mención Biología Celular y Molecular Aplicada Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.*

² *Doctor en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.*

³ *PhD, Profesor Titular, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. Teléfono: +56-45-2325458, Fax: +56-45-2325053.*

E-mail:

nestor.sepulveda@ufrontera.cl

RESUMEN

El objetivo este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación con aceite de pescado sobre el perfil de ácidos grasos del plasma seminal ovino. Los eyaculados fueron obtenidos de dos grupos de machos adultos manejados bajo mismas condiciones, uno suplementado por 2 meses con aceite de pescado y otro grupo como control. El perfil de ácidos grasos del plasma seminal fue analizado con cromatografía de gases. Los resultados muestran que la suplementación aumentó en un 4% la proporción de UFA en el plasma seminal y un 0,3% de ácido Elaidico y Eicosatrienoico, de suma importancia para la síntesis de UFA. En conclusión atribuimos estos resultados al efecto del aceite de pescado. Planteando el supuesto de que los UFA de pescado se incorporaron de manera directa a través del rumen o que por el contrario se metabolizaron y sirvieron como materia prima para la síntesis de nuevos UFA para el plasma seminal ovino.

Palabras clave: *Plasma seminal, ácidos grasos, suplementación*

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the effect of fish oil supplementation on fatty acid profile of sheep seminal plasma. The ejaculates were taken from two groups of adult males handled under the same conditions, one supplemented by two months with fish oil and another group as a control. The fatty acid profile of seminal plasma was analyzed by gas chromatography. The results show that supplementation increased by 4% the proportion of UFA in the seminal

plasma and 0.3% of Elaidic acid and Eicosatrienoic acid, important for the synthesis of UFA. In conclusion we attribute these results to the effect of fish oil. Raising the assumption that fish UFA joined directly through the rumen or otherwise metabolized by and served as starting material for the synthesis of new UFA for sheep seminal plasma..

Keywords: *Seminal plasma, fatty acids, supplementation*

INTRODUCCION

La importancia de los ácidos grasos presentes en el plasma seminal se ha observado en variadas especies incluyendo el ser humano (Wathes *et al.*, 2007). Los cuales son importantes para el desarrollo y protección de las células espermáticas (Leahy y de Graaf, 2012). La membrana de los espermatozoides está compuesta principalmente por ácidos grasos insaturados (UFA) del tipo omega 3 y omega 6 como ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) (Am-In *et al.*, 2011). Los ácidos grasos insaturados son cadenas carbonatadas largas, las cuales tienen como precursor el ácido esteárico, un ácido graso de 18 carbonos que es modificado por una enzima llamada esteroil CoA desaturasa (SCD), la cual tiene un producto intermedio, el ácido Elaidico (C18:1n9t) y como producto final el ácido Oleico (C18:1n9c), posteriormente una serie de elongasas y desaturasas, son las encargadas de la síntesis de novo otros ácidos grasos como los omega 3, 6 y 9 (Castro *et al.*, 2011).

En muchas especies como los ovinos la fertilidad del semen congelado es baja y se sabe que el espermatozoide ovino es más sensible a la temperatura que otras especies (Cardozo *et al.*, 2009). Sin embargo aún se desconoce el papel que pueda jugar las variaciones de estos ácidos grasos en la mantención de la integridad plasmática y acrosomal del espermatozoide debido a que los ácidos grasos son susceptibles a la peroxidación y con ello la ocurrencia de radicales libres (Safarinejad *et al.*, 2010). Existen diferentes suplementos que han sido utilizados para modificar la composición de ácidos grasos en el plasma seminal. Uno de los más utilizados es el aceite de pescado, debido a su alto contenido de ácidos grasos polinsaturados (PUFA) como el omega 3 y el omega 6. Se sabe que el aceite de atún por ejemplo incrementa la motilidad y mejora la morfología espermática (Estienne *et al.*, 2008). Es por estos antecedentes que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación con aceite de pescado sobre el perfil de ácidos grasos del plasma seminal ovino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 carneros Criollos Araucanos maduros clínicamente sanos de 1 a 4 años de edad y con un peso promedio de 81 kg del Campo Experimental Maquehue de la Universidad de La Frontera, Temuco, Región de La Araucanía, Chile (38°44' Latitud Sur, 72°35' Longitud Oeste). El muestreo se realizó en época reproductiva entre los meses de marzo a junio. Después de un periodo de aclimatación de un mes, los

carneros fueron distribuidos al azar en dos grupos homogéneos de 4 carneros cada uno. Un grupo de ellos fue suplementado, pero ambos grupos se mantuvieron en un mismo espacio físico, con paja y agua. La suplementación se realizó con aceite de pescado (Fish oil from Menhaden fish, Sigma, EUA). Los carneros del grupo suplementado recibieron 23 ml de aceite de pescado por vía oral 3 veces por semana durante los meses de Abril y Mayo, basado en el trabajo de Carbone *et al.* (2012).

Los eyaculados, fueron obtenidos mediante una vagina artificial. El plasma seminal fue separado de los espermatozoides por centrifugación y las muestras fueron almacenadas a -20°C hasta su posterior análisis. La extracción de lípidos totales del plasma seminal ovino consistió en la recuperación de 3 ml de plasma por duplicado, los cuales fueron homogenizados con 500 µl de hidróxido de amonio, posteriormente fueron lavados con 3 ml de alcohol al 95%, en seguida dos lavados con 7,5 ml de Éter dietílico (Merck, EUA) y Éter de petróleo (Merck, EUA). A continuación las muestras fueron agitadas por 1 hora y centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos. El sobrenadante fue secado con nitrógeno gaseoso, resuspendido en 4 ml de n-hexano (Merck, EUA) y secados nuevamente con nitrógeno gaseoso para su metilación y análisis por cromatografía de gases. Los ácidos grasos fueron identificados mediante los tiempos de retención de un estándar comercial (FAME mix Sigma, EUA). Las pruebas estadísticas (t de Student) se realizaron con JMP 7.0.1 (SAS, EUA).

RESULTADOS

Después de 8 semanas de suplementación con aceite de pescado, se modificó el perfil de ácidos grasos del plasma seminal ovino de manera significativa en los animales suplementados en comparación con el grupo control. Existió un incremento de un 4% ($p=0,0416$) en la proporción de ácidos grasos insaturados y de la misma forma una disminución de un 4% ($p=0,0372$) en los niveles de ácidos grasos saturados (SFA) (Tabla 1). No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones totales observadas de ácidos grasos monoinsaturados (MUFA). Se lograron identificar trece ácidos grasos diferentes en el perfil de ácidos grasos del plasma seminal ovino, los cuales se presentaron en porcentajes similares en los dos grupos (Tabla 1). Sin embargo se encontró una mayor proporción de ácidos grasos del tipo EPA (C20:5 n-3) y DHA (C22:6 n-3) en un promedio de 6,7% y 34%, respectivamente, sin significancia estadística. Se observó un aumento significativo de un 0,3% ($p=0,0188$) de ácido Elaidico (C18:1n9t) y de la misma forma se aprecia un incremento de un 0,3% ($p=0,0003$) de ácido

Eicosatrienoico (C20:3n3), este valor fue estadísticamente significativo. Los animales suplementados sufrieron un aumento de un 4,9% de DHA con respecto al grupo control, pero esta variación no fue significativa (Tabla 1).

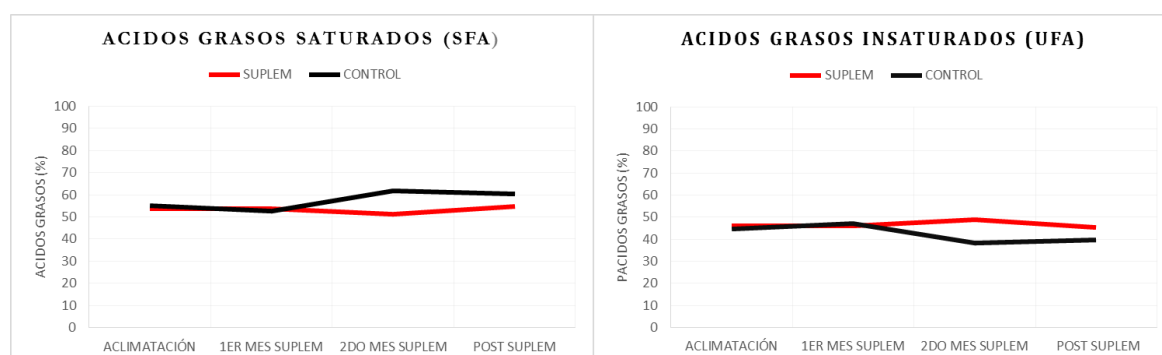
variaciones en los niveles de SFA y UFA en el perfil de ácidos grasos del plasma seminal. En el segundo mes de suplementación y post suplementación, se puede apreciar un aumento de los ácidos grasos UFA en el grupo de animales suplementados con aceite de pescado con respecto al grupo control (Figura 1).

Finalmente, durante los meses de aclimatación, suplementación y post suplementación se observaron

Tabla 1. Efecto de la suplementación de aceite de pescado sobre el perfil de ácidos grasos del plasma seminal ovino.

Ácidos Grasos	% Grupo control	% Grupo suplementado
C4:0	32,1 ± 9,5	27,4 ± 7,2
C6:0	1,1 ± 0,4	1,0 ± 0,6
C8:0	0,1 ± 0,3	0,2 ± 0,3
C14:0	8,2 ± 1,8	8,5 ± 1,7
C16:0	12,8 ± 2,9	12,7 ± 2,2
C18:0	3,2 ± 0,7	3,6 ± 0,6
C18:1n9t	1,1 ^a ± 0,4	1,4 ^b ± 0,3
C18:1n9c	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2
C18:2n6c	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2
C20:3n3	0,6 ^a ± 0,2	0,9 ^b ± 0,3
C20:3n6	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,2
C20:5n3	7,5 ± 4,7	5,9 ± 3,8
C22:6n3	31,6 ± 7,8	36,4 ± 5,1
SFA	57,5 ^a ± 5,1	53,3 ^b ± 4,6
MUFA	1,7 ± 0,5	2,1 ± 0,3
PUFA	40,7 ± 5,0	44,5 ± 5,0
UFA	42,5 ^a ± 5,1	46,6 ^b ± 4,7

Los valores expresados en esta tabla corresponden a porcentajes. SFA: ácidos grasos saturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos polinsaturados y UFA: ácidos grasos insaturados. ^a y ^b diferencias significativas ($p < 0.05$).



SUPLEM: suplementación.

Figura 1. Variaciones de los ácidos grasos saturados e insaturados del plasma seminal ovino durante el periodo de aclimatación, suplementación y post suplementación en el grupo suplementado con aceite de pescado y el grupo control.

DISCUSIÓN

La importancia de los ácidos grasos insaturados presentes en el plasma seminal en la funcionalidad y protección de las células reproductivas ha quedado en evidencia en algunas investigaciones, en particular los ácidos grasos del tipo omega 3 (Khosrowbeygi y Zarghami 2007; Safarinejad *et al.*, 2010). Si bien en este estudio no fue posible incrementar de manera significativa los niveles de EPA y DHA en el perfil de ácidos grasos del plasma seminal ovino mediante la suplementación con aceite de pescado. Si fue posible aumentar algunos intermediarios de suma importancia para su síntesis, como el ácido Elaidico y el ácido Eicosatrienoico en un 0,3% y creemos que estos resultados podrían estar directamente influenciados por la suplementación con aceite de pescado. Los altos niveles de omega 3 que contiene el aceite, podrían eventualmente seguir dos rutas. El traspaso directo a través del rumen e incorporarse a los diferentes tejidos por medio de los lípidos circundantes de la sangre o bien servir como materia prima, para la síntesis endógena de ácidos grasos PUFA (Doreau y Chilliard, 1997).

Otra observación que apoya el efecto directo de la suplementación con aceite de pescado se aprecia en la tendencia que se produce a partir del periodo de suplementación es el incremento global de ácidos UFA en el grupo suplementado con respecto al grupo control. Se observa claramente que este fenómeno no ocurre en el periodo de aclimatación y posterior a la suplementación donde esta diferencia se vuelve a estrechar, también, se observa un fenómeno similar en los ácidos grasos saturados.

CONCLUSIÓN

En conclusión la suplementación con aceite de pescado a carneros, modifico el perfil de ácidos grasos del plasma seminal. Los resultados de este estudio nos abren las puertas para evaluar las consecuencias del incremento de ácidos grasos insaturados del plasma seminal ovino sobre parámetros de calidad espermática y a su vez el impacto que podría tener este fenómeno sobre los efectos negativos del shock térmicos producidos por técnicas como la criopreservación y la ocurrencia de radicales libres producto de la peroxidación lipídica de la membrana. También es necesario estudiar en detalle cómo afectan otros factores al perfil de ácidos grasos del plasma seminal ovino, tales como la edad, el peso y el estado de salud del animal, así como

también el efecto de otros suplementos y en diferentes dosis.

REFERENCIAS

- Am-In N, Kirkwood R, Techakumphu M, Tantasuparuk W. Lipid profiles of sperm and seminal plasma from boars having normal or low sperm motility. *Theriogenology*. 2011; 75(5):897-903.
- Carbone A, Psaltis PJ, Nelson AJ, Metcalf R, Richardson JD, Weightman M, et al. Dietary omega-3 supplementation exacerbates left ventricular dysfunction in an ovine model of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Journal of cardiac failure*. 2012; 18(6):502-11.
- Cardozo JA, Grasa P, Muiño-Blanco T, Cebrián-Pérez J. Adición de proteínas del plasma seminal ovino durante la congelación del espermatozoide y efectos sobre su motilidad y viabilidad. *Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 2009; 10:51-9.
- Castro LFC, Wilson JM, Gonçalves O, Galante-Oliveira S, Rocha E, Cunha I. The evolutionary history of the stearoyl-CoA desaturase gene family in vertebrates. *BMC evolutionary biology*. 2011; 11(1):132.
- Doreau M, Chilliard Y. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British Journal of Nutrition*. 1997; 78(01):S15-S35.
- Estienne M, Harper A, Crawford R. Dietary supplementation with a source of omega-3 fatty acids increases sperm number and the duration of ejaculation in boars. *Theriogenology*. 2008; 70(1):70-6.
- Khosrowbeygi A, Zarghami N. Fatty acid composition of human spermatozoa and seminal plasma levels of oxidative stress biomarkers in subfertile males. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2007; 77(2):117-21.
- Leahy T, de Graaf S. Seminal plasma and its effect on ruminant spermatozoa during processing. *Reproduction in domestic animals*. 2012; 47(s4):207-13.
- Safarinejad MR, Hosseini SY, Dadkhah F, Asgari MA. Relationship of omega-3 and omega-6 fatty acids with semen characteristics, and anti-oxidant status of seminal plasma: a comparison between fertile and infertile men. *Clinical Nutrition*. 2010; 29(1):100-5.
- Wathes DC, Abayasekara DRE, Aitken RJ. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biology of reproduction*. 2007; 77(2):190-201.