

Especificidad en la acumulación de ácidos grasos en tejido adiposo de mamíferos

A. Martínez-Conde, P. Mayor y P. Jarillo

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
Universidad Complutense
28040 Madrid (Spain)

(Recibido el 6 de agosto de 1985)

A. MARTINEZ-CONDE, P. MAYOR and P. JARILLO. *Fatty Acids Accumulation Specificity in Mammal Adipose Tissue*. Rev. esp. Fisiol., 42 (3), 365-370, 1986.

To investigate possible differences in triacylglyceride accumulation in adipose tissue, six different species have been studied (hamster, mouse, rat, rabbit, dog and pig). They were fed the same diet of high proportion of saturated fatty acids during 3 months after the lactation period. There are significant differences between the fatty acids in the diet and the studied tissue, a higher proportion of miristic, palmitoleic and linoleic acids together with a minor proportion of palmitic and stearic acids being accumulated in all studied species except in pig. The differences among species were significant in most cases being maximal in pig (57.7 % of saturated fatty acids) and hamster (24.4 % of saturated fatty acids). There is a direct relationship between the position of each fatty acid in the triacylglyceride and its proportion in the tissue, this proportion being maximal when the fatty acid is placed on position 2 in the triacylglycerides. There is also a relationship between the different position in the filogenetic scale of each studied species and the differential fatty acid composition. All these data suggest that there are specific mechanisms involved in the fatty acids accumulation on the adipose tissue. The position of the different fatty acids in the triacylglyceride studied could be a part of this mechanism.

Key words: Fatty acids, Adipose tissue, Positionality, Triacylglycerides.

La acumulación de ácidos grasos en tejido adiposo en forma de triacilglicéridos es el resultado de un complejo mecanismo en que participan enzimas con una elevada especificidad tanto posicional por lo acilglicéridos como por los ácidos grasos en función de su longitud de cadena y grado de insaturación (9).

En los triacilglicéridos de tejido adiposo de distintas especies se ha observado una tendencia generalizada a disponer en la posición 2 los ácidos grasos de cadena

más larga e insaturada (1, 7); este fenómeno lo hemos estudiado anteriormente analizando la influencia en el mismo de los mecanismos enzimáticos implicados en el proceso de lipólisis-esterificación, y poniendo de relieve el papel del ciclo de Cahill en la retención selectiva de los ácidos grasos insaturados, fundamentalmente linoleico (8).

Se conoce la existencia de alteraciones en la composición en ácidos grasos de tejido adiposo como consecuencia del

frío (2), el ayuno (9), la edad (4) o la acción de hormonas (6) así como en estados patológicos como la diabetes (4). Asimismo existe una notable influencia de la dieta, sin ser ésta una relación directa (11), si bien en los animales tratados con dietas diferentes se mantiene la desigual distribución de ácidos grasos en los triacilglicéridos de depósito (11), lo cual avala la naturaleza enzimática de este fenómeno.

Anteriormente HILDITCH (5) demostró que especies sometidas a la misma dieta poseen una gran diversidad en el grado de insaturación de los triacilglicéridos de su tejido adiposo. En el presente trabajo tratamos de avalar la importancia de la especificidad de los mecanismos enzimáticos del ciclo lipólisis-esterificación sobre la acumulación de ácidos grasos en tejido adiposo, utilizando para ello animales de 6 especies distintas de mamíferos sometidos a una dieta rica en ácidos grasos saturados y analizando la composición en ácidos grasos de tejido adiposo epididimal así como su relación con la distribución posicional de los ácidos grasos en los triacilglicéridos.

Material y Métodos

Se utilizaron 4 machos de cada una de las siguientes especies: hamster, ratón (Swiss), rata (Wistar), conejo, perro y cerdo.

Todos los animales fueron destetados al cumplir un mes y sometidos a la misma dieta durante los siguientes 3 meses. La dieta consistió en un pienso (Sanders) con la siguiente composición: proteínas (18,5 %), grasa (3,10 %), fibra (4,5 %), minerales (6,0 %), fósforo (0,75 %), calcio (0,90 %), CNa (0,40 %), K (0,42 %), Mg (0,20 %), Mn (45 ppm), Zn (38 ppm), Fe (40 ppm), Cu (12 ppm), vitamina A (15.000 UI/kg), vitamina A₃ (3.000 UI/kg), vitamina E (44 ppm), vitamina K (6 ppm), nicotínico (7,8 ppm),

colina (105 ppm), vitamina B₁ (4 ppm), vitamina B₆ (7,5 ppm), vitamina B₁₂ (6 µg/kg), vitamina B₂ (3,2 ppm) y pantoténico (3 ppm).

Finalizado el período de 3 meses se procedió a la extracción del tejido adiposo epididimal de ambos testículos de todos los animales. En un homogeneizador se extrajeron los lípidos de 20 mg de tejido con 5 ml de cloroformo-metanol (2:1), 4 veces. Al homogeneizado, recogido en tubos de extracción, se añadieron 6 ml de CNa 0,8 % y se continuó la extracción según la técnica de FOLCH *et al.* (3). Los lípidos totales obtenidos fueron fraccionados mediante cromatografía en capa fina de Silicagel G 60 utilizando como fase móvil una mezcla de n-hexano, éter etílico, ácido acético (70:30:1), lo que permitió recoger la fracción de triacilglicéridos para realizar el análisis de los ácidos grasos mediante cromatografía gas-líquido (10).

Para el análisis de la distribución posicional de los ácidos grasos en triacilglicéridos se partió de 20 mg de tejido cuyos lípidos fueron extraídos por homogeneización con 20 ml de cloroformo-metanol (2:1) y fraccionados por cromatografía en capa fina. La fracción de triacilglicéridos, tras ser redisuelta en cloroformo, fue lavada tres veces con agua destilada (v:v) y desecada con Na₂SO₄. Tras desecar bajo atmósfera de nitrógeno en tubos de extracción se añadieron 2,5 ml de Krebs-Hepes (pH 7,4) y tras sonicar 5 min se incubó con 0,04 ml de disolución alfalipasa de *Rhizopus arrhizus* (Boehringer Mannheim) durante 30 min a 37°C en baño con agitación. Una vez extraídos los lípidos totales mediante la técnica de FOLCH *et al.* (3) se procedió al fraccionamiento de los mismos por cromatografía en capa fina, recogiendo las fracciones de ácidos grasos libres y monoacilglicéridos para su análisis por cromatografía gas-líquido (10).

El análisis de la composición en ácidos grasos de los lípidos del pienso se realizó

en muestras de 0.5 g ($n = 4$) que fueron trituradas mediante un homogeneizador de aspas en 20 ml de cloroformo-metanol (2:1), y siguiendo el procedimiento de extracción y análisis anteriormente descrito para los tejidos.

El tratamiento estadístico de los datos obtenidos se ha realizado utilizando la media y la desviación estándar, el test es de Student para muestras no aparejadas (12) y siendo el nivel de significación $p < 0,01$.

Resultados

Los lípidos de la dieta poseen una proporción de saturados de 47,1 % mientras que en las diferentes especies estudiadas hay proporciones muy dispares (tabla I).

La proporción de cada ácido graso en la dieta es significativamente distinta de la proporción en los triacilglicéridos de tejido adiposo de las distintas especies. Se produce un incremento respecto a la dieta, de los ácidos mirístico (14:0), palmitoleico (16:1) y linoleico (18:2) en todas las especies excepto el cerdo; así como un descenso, con respecto a la dieta, de ácido palmítico (16:0) y esteárico (18:0) en todas las especies a excepción del cerdo.

Las diferencias entre las distintas especies son muy variables, así dos especies como ratón y hamster poseen una gran similitud en la proporción de ácidos grasos, o entre perro y conejo. La proporción de ácidos palmítico, palmitoleico, esteárico y linoleico en cerdo es significativamente distinta de la de otras especies, siendo máxima la diferencia con la pareja ratón-hamster. Las diferencias del hamster con cerdo, perro, conejo y rata son significativas en casi todos los casos.

En la tabla II se recoge la proporción de cada ácido graso en cada especie así como la relación entre % en la posición 2 y % en las posiciones 1 + 3 de los triacilglicéridos de tejido, que indica el grado

de posicionalidad en 2 de cada ácido graso. La diferencia de posicionalidad para cada ácido graso entre las distintas especies es muy alta en el caso del mirístico, esteárico, palmitoleico y linoleico.

Discusión

Los resultados obtenidos permiten afirmar que especies alimentadas con la misma dieta acumulan en sus depósitos ácidos grasos en proporciones muy distintas a las de la dieta, y que esta acumulación está sujeta a unas características como son un incremento en la proporción de los ácidos mirístico, palmitoleico y linoleico con respecto a la dieta, así como un descenso en la proporción de los ácidos palmítico y esteárico, constituyendo el cerdo una notable excepción por su tendencia a la acumulación de saturados y a la no acumulación de linoleico.

Las diferencias entre las distintas especies resultan significativas en general, lo que coincide con los resultados de HILDRICH (5) y muestran una relación con la distancia filogenética que separa a las distintas especies, lo que parece implicar una especificidad de especie en los mecanismos de acumulación de ácidos grasos en tejido.

De los datos obtenidos parece deducirse un sistemático incremento en la proporción de los ácidos mirístico, palmítico, esteárico, palmitoleico y linoleico en los animales de las distintas especies, con el incremento de la relación % en 2/% en 1 + 3. Este fenómeno avala nuestra hipótesis de que la acumulación de ácidos de cadena larga e insaturada en triacilglicéridos de tejido es consecuencia de su mayor preferencia por la posición 2, y que es el funcionamiento sistemático del ciclo lipólisis-esterificación, el que origina un paulatino incremento en la proporción de estos ácidos en tejido, al ser específicamente reciclados a la forma de triacilglicéridos (8). La excepción del cerdo

Tabla I. *Acido graso (media \pm D.E.) en la dieta y las especies estudiadas.*
 C, P, Co, R, Ro y H indican la existencia de diferencias significativas al nivel $p < 0,01$ con las especies cerdo, perro, conejo, rata, ratón y hamster.
 (n = 4).

Acido graso	Dieta	Cerdo	Perro	Conejo	Rata	Ratón	Hamster
14 : 0	0,7 \pm 0,12 C, P, Co, R, Ro, H	3,9 \pm 0,31 Ro, H	4,9 \pm 0,35 R, Ro, H	4,4 = 0,24 R, Ro, H	3,6 \pm 0,26 Ro, H	2,0 \pm 0,33	1,4 \pm 0,19
16 : 0	27,0 \pm 1,05 C, P, R, Ro, H	33,8 \pm 2,20 P, Co, R, Ro, H	21,2 \pm 1,91	23,4 \pm 1,47 H	22,1 \pm 1,32 H	20,8 \pm 1,53	17,1 \pm 1,84
16 : 1	2,9 \pm 0,37 C, P, Co, R, Ro, H	5,8 \pm 0,73 P, Co, R, Ro	10,1 \pm 0,35 H	11,3 \pm 0,63 H	9,7 \pm 0,80 H	10,7 \pm 0,50 H	6,5 \pm 0,31
18 : 0	19,4 \pm 1,31 P, Co, R, Ro, H	19,9 \pm 1,12 P, Co, R, Ro, H	11,0 \pm 1,04 Co, R, Ro, H	6,7 \pm 0,82 Ro	5,6 \pm 0,42 Ro	1,5 \pm 0,11 H	5,8 \pm 0,17
18 : 1	38,1 \pm 0,96 C, P, Co, R	31,8 \pm 1,35 Ro, H	33,3 \pm 1,62 H	32,1 \pm 1,49 Ro, H	33,0 \pm 1,67 Ro, H	39,1 \pm 2,20	42,9 \pm 2,24
18 : 2	12,0 \pm 0,52 C, P, Co, R, Ro, H	5,1 \pm 0,82 P, Co, R, Ro, H	19,6 \pm 1,16 R, Ro, H	21,7 \pm 1,56 R	26,5 \pm 1,19	26,2 \pm 1,83	26,2 \pm 2,05

Tabla II. Porcentaje y grado de posicionalidad en 2 de cada ácido graso para cada especie animal estudiada.

El grado de posicionalidad en 2 se expresa como la relación entre el % en la posición 2 y el % en la posición 1 + 3 de los triacilglicéridos de tejido.

Animal	%	% 2 / % 1 + 3
ACIDO MIRÍSTICO (14 : 0)		
Hamster	1,42	0,16
Ratón	2,03	0,41
Cerdo	3,94	0,63
Rata	3,62	0,70
Conejo	4,38	1,05
Perro	4,95	2,61
ACIDO PALMÍTICO (16 : 0)		
Hamster	17,15	0,61
Ratón	20,84	0,62
Rata	22,14	0,69
Perro	21,23	0,88
Conejo	23,40	0,91
Cerdo	33,78	0,95
ACIDO ESTEARICO (18 : 0)		
Hamster	5,82	0,07
Ratón	1,50	0,12
Rata	5,63	0,27
Conejo	6,73	0,37
Perro	10,99	0,46
Cerdo	19,93	0,80
ACIDO PALMITOLEICO (16 : 1)		
Hamster	6,54	0,46
Cerdo	5,81	0,88
Rata	9,69	0,95
Ratón	10,69	1,00
Perro	10,05	1,27
Conejo	11,30	1,41
ACIDO OLEICO (18 : 1)		
Perro	33,26	0,95
Ratón	39,09	1,12
Conejo	32,06	1,15
Rata	33,02	1,21
Hamster	42,89	1,25
Cerdo	31,82	1,28
ACIDO LINOLEICO (18 : 2)		
Cerdo	5,10	0,84
Conejo	21,73	1,00
Perro	19,60	1,20
Ratón	26,18	1,32
Rata	26,52	1,32
Hamster	26,20	1,57

como especie en la que el ácido linoleico se encuentra dispuesto preferentemente en las posiciones externas de la molécula de triacilglicéridos, hecho ya conocido (7), y cuya proporción en este ácido esencial resulta inferior a la de la dieta no hace sino avalar nuestra hipótesis.

Resumen

Se estudia la acumulación de ácidos grasos en triacilglicéridos de tejido adiposo en 6 especies de mamíferos (hamster, ratón, rata, conejo, perro y cerdo) alimentados, durante los tres meses posteriores al final de la lactancia, con una dieta rica en ácidos grasos saturados. Las diferencias entre la composición en ácidos grasos de la dieta y del tejido de los animales son significativas, acumulándose una mayor proporción de mirístico, palmitoleico y linoleico, y una menor proporción de palmítico y esteárico en todos los casos, excepto en el cerdo. Las diferencias entre las distintas especies significativas en muchos casos, siendo máximas en el cerdo (57,7 % de saturados) y en el hamster (24,4 % de saturados). Hay una relación directa entre la posición de cada ácido graso en triacilglicéridos y su proporción en tejido, siendo mayor la proporción del ácido graso en tejido de una especie cuanto mayor es su tendencia a ocupar la posición 2 de los triacilglicéridos. Se observa una relación entre la distancia filogenética entre las distintas especies y la diferencia en la composición, lo que parece implicar una especificidad en los mecanismos que conducen a la acumulación de ácidos grasos en tejido, cuyo fundamento estaría en la distinta disposición de los ácidos grasos en la molécula de triacilglicéridos.

Bibliografía

1. Brockerhoff, H., Hoyle, R. J. y Wolmark, W.: *Biochim. Biophys. Acta*, **116**, 67-72, 1966.
2. Fawcett, D. W. y Lyman, C. P.: *J. Physiol.*, **126**, 235-247, 1954.
3. Folch, J., Lees, M. y Sloane Stanley, G. H.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509, 1957.
4. Gellhorn, A. y Benjamin, W.: En «Handbook of Physiology», Section V. (A. E. Renold y G. F. Cahill, eds.), Am Physiol. Soc. Washington, 1965. pp. 399-405.
5. Hilditch, T. P.: En «The Chemical Constitu-

- tion of Natural Fats», J. Wiley, Inc. Nueva York 1956, p. 565.
6. Hollenberg, C. H. y Douglas, D. E.: *Nature*, 193, 1074-1075, 1962.
 7. Kuksis, A.: En «Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids» (R. T. Holman, ed.), Pergamon Press, Oxford., 1972, Vol. 12, pp. 76-78.
 8. Martínez-Conde, A., Mayor, P. y Tamarit, J.: *Rev. esp. Fisiol.*, 40, 213-220, 1984.
 9. Martínez-Conde, A., Mayor, P. y Tamarit, J.: *N. Arch. Fac. Med.*, 42, 131-134, 1984.
 10. Ottenstein, M. y Supina, W. R.: *J. Chrom.*, 91, 119-126, 1974.
 11. Privett, O. S., Blank, M. L. y Verdino, B.: *J. Nutr.*, 85, 187-195, 1965.
 12. Snedecor, G. W. y Cochran, W. G.: *Statistical Methods*. Iowa State University Press, Ames. 1967.