

Influencia de los ácidos linoleico y linolénico, y de la colina sobre el metabolismo de ácidos grasos de corazón de rata *

M.^a Encarnación Rivera **

Physiologisch-chemisches Institut
Universität Köln
Alemania

(Recibido el 29 de abril de 1971)

M.^a E. RIVERA. *Influence of Dietary Ethyl Linoleate, Ethyl Linolenate and Choline Upon Fatty Acid Metabolism of Rat Heart*. R. esp. Fisiol., 27, 267-274. 1971.

The effects of dietary linoleate plus linolenate on heart phosphatides of essential fatty acid-deficient rats were investigated; a group of the animals received in addition choline. The fatty acid composition of heart phosphatides was determined by gas-liquid chromatography. Linolenate inhibits the incorporation of linoleate and its derivatives into phosphatides. Choline-fed rats show a greater incorporation of linoleate and C₂₂-fatty acids and a smaller one of eicosatrienoic acid into heart phosphatides.

La influencia de la dieta sobre la composición de los lípidos en los diversos órganos es un hecho conocido desde hace tiempo. Se ha estudiado esta relación, primero, de un modo empírico, empleando diversas grasas de composición varia y, posteriormente, de un modo más controlado, con distintos ácidos grasos. El resultado de estos experimentos indica que se pueden reducir los efectos de los lípidos ingeridos a los de determinados ácidos grasos, así, la ingestión de aceite de hígado de bacalao por ratas altera la compo-

sición lipídica del corazón hasta el punto de que se asemeja a la del aceite ingerido (13). En el caso de no administrar ningún tipo de grasa en la dieta, se acumula en los órganos un ácido eicosatrienoico sintetizado a partir del ácido oleico (8); este ácido se encuentra en la posición β de la molécula fosfatídica (4), y disminuye al agregar a la dieta los ácidos linoleico o linolénico (7), pero, en el caso de dar ácido linolénico, es menor la incorporación de ácido araquidónico. En el hígado de pollos alimentados con aceite de linaza se duplica el contenido de ácido linoleico, mientras que disminuye el de ácido araquidónico, de ahí deduce MACHLIN (10) que el ácido linolénico inhibe la conversión de ácido linoleico a ácido araquidónico. MOHRHAUER y HOLMAN (11) administran ácido linoleico junto a cantidades

* El presente trabajo es parte de la tesis doctoral presentada en la Facultad de Farmacia de Madrid.

** Dirección actual: Max Planck Institut für Ernährungs-physiologie, Rheinlanddamm, 201, 46 Dortmund (Alemania).

crecientes de ácido linolénico, llegando a obtener una ligera disminución del ácido araquidónico y del ácido docosapentaenoico en ratas carentes de grasa. Todas estas observaciones indican que el ácido linolénico ejerce una influencia sobre el metabolismo del ácido linoleico, hecho que no se debe reducir al hígado — órgano en el que se han realizado la mayoría de las investigaciones —, sino también en el corazón.

STEIN y STEIN (16) perfundieron el corazón aislado de rata con un medio en el que se encontraban ácidos grasos libres marcados, y observaron que la fracción de lecitina contenía más del 70 % de los ácidos grasos totales incorporados; entre éstos, predominaban los ácidos linoleico y esteárico sobre el palmítico, y el linoleico tenía un turnover más rápido. Esto nos indujo a pensar que la administración de colina con la dieta podría ejercer una influencia en la composición de los fosfátidos, y de sus ácidos grasos, en el corazón.

BEST y RIDOUT (2) reseñaron en 1934 que la colina evitaba la acumulación de grasa neutra en el organismo; en 1939 encontraron PERLMAN y CHAIKOFF (12) una incorporación de colina marcada en los fosfátidos del hígado. BALINT *et al.* (1) observaron que la lecitina de la vesícula biliar y del plasma — ambas de origen hepático — incorporaron ácido linoleico con preferencia al araquidónico; pero no indican nada referente al ácido linolénico ni a sus derivados.

En el presente trabajo se estudia la influencia de los ácidos grasos linoleico y linolénico, y de la colina sobre los ácidos grasos de los fosfátidos del corazón.

Material y métodos

Se emplearon ratas macho Sprague Dawley de 4 a 6 semanas de edad. La dieta carente de grasa contiene diversas proporciones de azúcar, caseína desengrasada y sales según el peso (14), y un su-

plemento semanal de vitaminas A, B₆, D y E.

Se hicieron tres lotes de 15 ratas. El lote I recibió diariamente 75 mg de linoleato de etilo y 75 mg de linoleato de etilo (F. Hoffmann-La Roche, Basilea) por vía oral, a partir de la tercera semana.

El lote II recibió el mismo suplemento de ácidos grasos esenciales; desde el principio de la experiencia recibieron junto a la dieta carente de grasa 3 mg diarios de colina (clorhidrato de colina, p.a., Merck, Darmstadt).

El lote III recibió exclusivamente la dieta carente de grasa, y sirvió de control.

Tres animales de cada lote se sacrificaron semanalmente; los corazones de cada grupo se homogenizaron con cloroformo/metanol (1:1, v/v), se agregó cloroformo para llevar la concentración a la proporción cloroformo/metanol (2:1, v/v), y se extrajeron los lípidos con dicha mezcla según el método de FOLCH *et al.* (5); el resto de las operaciones, para obtener y analizar los ácidos grasos de los fosfátidos, se llevó a cabo siguiendo métodos indicados en anteriores trabajos (14, 15).

Resultados y discusión

Todos los animales presentaron síntomas externos de deficiencia de grasa (rabo necrótico, pies escamosos); en el lote que recibió los ácidos linoleico y linolénico se produce una ligera regresión de estos síntomas, pero sin llegar a una total desaparición. En la tabla I indicamos la composición de los ácidos grasos del corazón.

La proporción de ácidos saturados mirístico (14:0), palmítico (16:0), esteárico (18:0) permanece prácticamente constante dentro de cada lote, pero el control contiene la menor cantidad, y el lote II la mayor; esto confirma los experimentos realizados por STEIN (16) en lo relativo al esteárico, pero nosotros encontramos más palmítico en este grupo, lo cual puede deberse a que las lisolecitinas saturadas

Tabla I. Composición de los ácidos grasos que forman parte de los fosfatidos del corazón (tanto por ciento del total de ésteres metílicos), obtenida por cromatografía de gases.
 Grupo I: dieta carente de grasa, con suplemento de ácidos linólico y linolénico. Grupo II: dieta carente de grasa, con suplemento de ácidos linólico y linolénico, con colina. Grupo III: dieta carente de grasa.

Ester graso	Grupo I					Grupo II					Grupo III				
	Semanas					Semanas					Semanas				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
14:0	0,2	0,3	0,4	0,4	0,3	0,8	0,4	0,4	0,3	0,7	0,9	0,4	0,9	0,3	0,4
16 al ^a	1,1	0,5	0,3	0,3	0,5	0,3	0,2	0,2	0,3	0,6	0,7	0,5	0,8	1,4	1,5
16:0	17,6	19,5	19,6	21,8	16,8	23,1	20,9	23,4	23,0	29,7	23,1	13,0	14,7	15,3	13,2
16:1	4,4	3,1	3,1	3,1	2,4	4,2	2,9	4,2	2,9	5,9	3,3	3,1	8,1	1,7	2,7
18 al ^a	0,5	0,4	0,2	0,1	0,1	1,1	0,5	0,4	0,4	1,1	4,1	0,8	0,7	0,6	0,3
18:0	26,1	35,6	30,8	24,8	26,5	34,8	31,8	31,7	32,3	20,8	26,7	22,6	28,7	27,1	29,7
18:1	11,3	24,3	24,0	20,7	20,9	25,5	23,3	28,1	25,1	28,8	18,1	31,1	28,3	25,1	24,2
18:2	13,1	6,7	10,4	10,9	13,7	4,9	10,1	7,6	9,2	5,1	4,3	4,3	4,0	2,7	4,5
18:3	0,8	0,5	0,3	0,2	0,2	0,3	0,6	0,4	0,9	1,1	—	—	—	—	—
20:1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,1	1,0	0,2	1,5	0,9
20:3 ^b	4,0	2,9	1,7	1,3	1,0	1,0	0,5	0,7	0,9	1,5	1,2	6,1	5,5	9,3	6,4
20:3 ^c	0,1	0,5	0,5	0,6	1,1	—	0,3	0,3	0,7	—	—	—	—	—	—
20:4	10,1	5,4	5,1	7,8	13,0	0,8	4,1	2,1	4,2	2,3	15,1	13,2	12,7	14,9	13,0
20:5	1,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,6	0,7	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—	—
22:5	0,7	0,9	0,7	0,8	0,8	0,7	0,1	0,1	0,6	0,3	—	—	—	—	—
22:6	5,6	1,3	1,3	1,6	2,1	0,9	2,8	1,7	2,7	1,9	3,1	2,5	2,3	3,6	3,3

^a al: identificado como aldehído saturado de 16 ó 18 átomos de carbono.

^b Δ-5,8,11-C_{20:3}*

^c Δ-8,11,14-C_{20:3}*

muestran una mayor preferencia que las no saturadas por ácido palmítico (17).

El ácido palmítoleico (16:1) se presenta aproximadamente en la misma proporción en los tres grupos; el oleico (18:1) aumenta, como era de esperar, paulatinamente en el lote III; en los otros dos lotes permanece en un nivel más o menos constante, aunque elevado en el lote II. El lote III acumula 20:1.

Los ácidos grasos poliénoicos del corazón pertenecen fundamentalmente a las familias del linoléico, linoleico y oleico, cuyo primer doble enlace, contando a partir del grupo metilo terminal, se encuentra en posición ω_3 , ω_6 y ω_9 , respectivamente; normalmente, en el estado de carencia grasa, se presentan ácidos derivados del palmítoleico en una pequeña cantidad; en la cromatografía de gases con columna de succinato de etilenglicol (EGS) no se pueden separar, y salen generalmente junto

con los ácidos derivados del oleico, pero esto no es impedimento para estudiar la influencia de los ácidos esenciales. Generalmente, los ácidos poliénoicos se incorporan en la posición β de la molécula de fosfátidos (9).

El estado de carencia en el lote III se manifiesta en una mayor incorporación del ácido eicosatrienoico, y una desaparición total de los ácidos eicosapentaenoico y docosapentaenoico (este último de las series ω_6 y ω_3).

El lote que recibe colina tiene, en general, una menor cantidad de ácidos poliénoicos y presenta, desde el principio, menos ácido eicosatrienoico que el grupo que no recibe colina.

Con el fin de poder estudiar mejor las interrelaciones entre los ácidos poliénoicos, y ver si la colina ejerce otro tipo de influjo sobre ellos — aparte de esta disminución —, se llevó a cabo un fraccionamiento de los ácidos grasos en forma de aductos de mercurio de sus ésteres por medio de una cromatografía en columna (14).

En primer lugar consideramos los ácidos poliénoicos de un modo global, desde el punto de vista de la serie a que pertenecen (fig. 1) y de la longitud de cadena (fig. 2).

El grupo control presenta una disminución de los ácidos de las series ω_6 y ω_3 , a pesar de la gran proporción de ácido araquidónico que se encuentra en los ácidos grasos totales. Al suministrar los ácidos linoleico y linoléico, éstos se incorporan directamente en los fosfátidos (figura 2); la colina favorece esta acilación con respecto a ácidos superiores, lo que concuerda con BALINT (1); por otra parte, en el grupo con colina se encuentran más ácidos decosanoicos. En ambos grupos se incorporan más ácidos de la familia del linoleico al principio, y que con el tiempo se presenta una inhibición por parte de los ácidos de la familia del linoléico, más marcada en el grupo II (fig. 1).

BALINT (1) reseña una mayor incorpo-

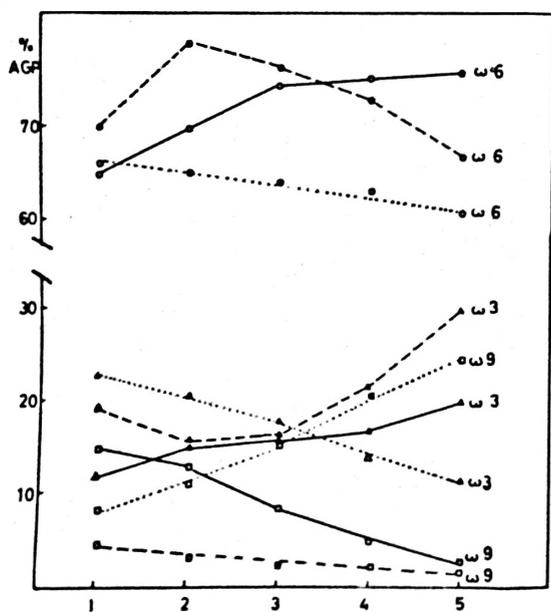


Fig. 1. Distribución de los ésteres grasos poliénoicos (AGP) de los fosfátidos cardíacos.

Lotes: I (—), II (- - -) y III (· · ·). Datos obtenidos a partir de los cromatogramas de gases de los ésteres poliénoicos.

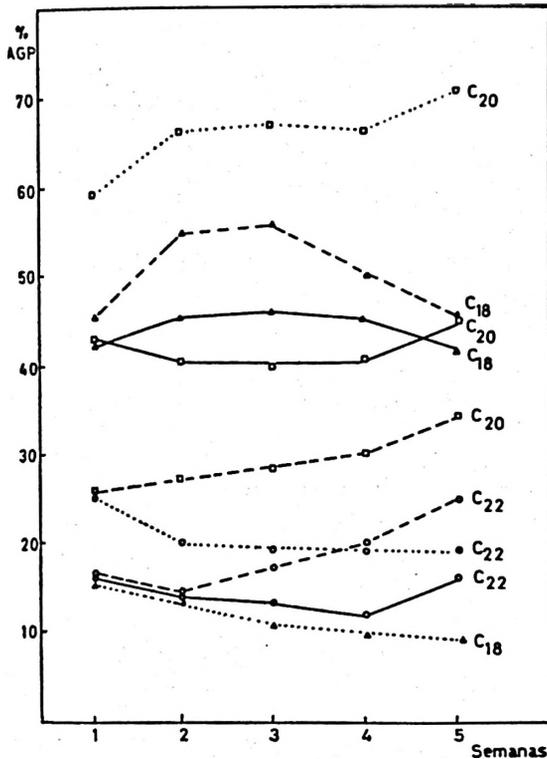


Fig. 2. Distribución de los ésteres grasos poliénoicos (AGP) de los fosfátidos del corazón según la longitud de cadena.

Lotes: I (—), II (---) y III (···). Datos obtenidos a partir de los cromatogramas de gases de los ésteres poliénoicos.

ración de ³²P-fosfato y ³H-metilcolina en la lecitina con ácido linoleico que en la que lleva ácido araquidónico; estos datos concuerdan con los encontrados en nuestros experimentos (figs. 3 y 4). Observamos que en los animales que reciben colina se encuentran preferentemente ácidos de 18 y 22 átomos de carbono en los fosfátidos, lo que hace pensar que ésta es la causa de la menor proporción de ácido eicosatrienoico. BRENNER (3) reseña que sólo la incorporación de araquidónico en los lípidos del hígado hace disminuir la cantidad de ácido eicosatrienoico; si estudiamos las curvas de la figura 3, vemos que esto se confirma; en cambio, en el caso del lote II (fig. 4) no se cumple, y es

porque la incorporación de araquidónico se ve inhibida por una mayor acilación de ácidos procedentes del linoléico, especialmente el 22:6.

HOLMAN (6) informa sobre un incremento del ácido linoleico, araquidónico y 22:5 ω6 en los fosfátidos del corazón tras la ingestión de ácido linoleico por ratas, mientras que el ácido docosahexae-

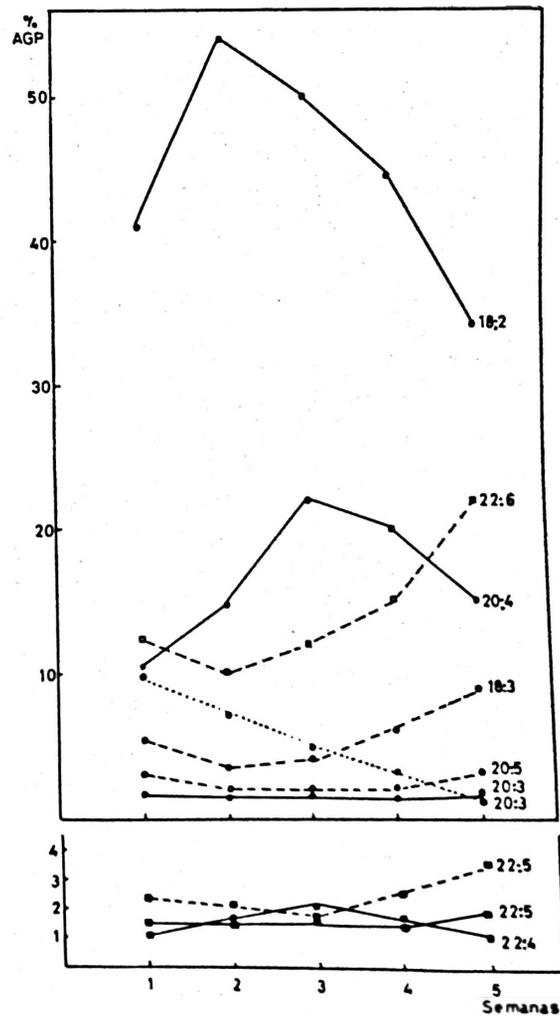


Fig. 3. Efecto de los ácidos linoleico y linoléico de la dieta sobre la composición de los ácidos grasos poliénoicos (AGP) de los fosfátidos del corazón en ratas mantenidas a dieta carente de grasa.

Datos obtenidos a partir de los cromatogramas de gases de los ésteres poliénoicos.

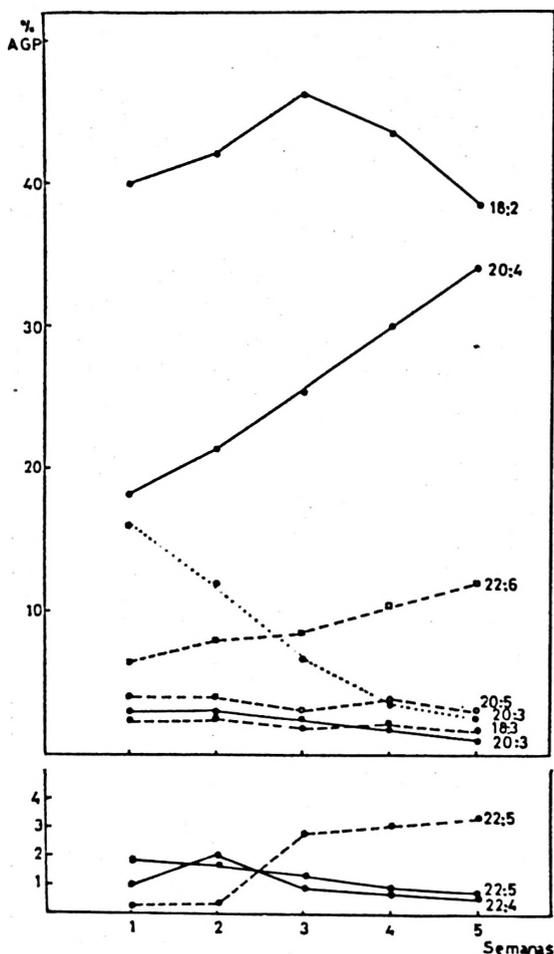


Fig. 4. Efecto de los ácidos linoleico y linolénico de la dieta sobre la composición de los ácidos grasos poliénoicos (AGP) de los fosfátidos del corazón en ratas mantenidas a dieta carente de grasa, con suplemento diario de colina.

Datos obtenidos a partir de los cromatogramas de gases de los ésteres poliénoicos.

noico permanece inalterado. En nuestro caso, la administración conjunta de los ácidos linoleico y linolénico mantiene al ácido 22:5 ω 6 en baja concentración, con tendencia a disminuir; en cambio, se acumulan productos intermedios del metabolismo del ácido linoleico, como son el ácido γ -linolénico (sólo en el lote II), 20:3 ω 6 (en ambos lotes), ácidos que nor-

malmente no se encuentran en los fosfátidos. El sistema enzimático responsable del alargamiento de la cadena y de la desaturación de los ácidos grasos es el mismo para todos los tipos de ácidos; en el estado de carencia de grasa se pueden sintetizar ácidos con el primer doble enlace en posición 9 (y en menor proporción en posición 7) con respecto al grupo metilo terminal, dando lugar a los ácidos palmítoleico (ω 7) y oleico (ω 9). No es posible la introducción del doble enlace en posición ω 6 ni ω 3, por lo que los únicos ácidos que ocupan los centros activos del enzima (o sistema enzimático) para la desaturación y el alargamiento de cadena son el ácido palmítoleico y el oleico, dando lugar al 20:3 ω 9 fundamentalmente. Si la dieta contiene los ácidos linoleico y linolénico, el sistema enzimático anteriormente mencionado catalizará su conversión en ácidos grasos superiores, de características fisicoquímicas más convenientes a los fosfátidos de la membrana, que sustituyen al 20:3 en la posición β de la molécula (3, 4). Este hecho nos hace suponer que la inhibición se realiza a la altura del sistema acilante; por ello, en los animales que reciben colina, existe una distribución diversa de los ácidos grasos poliénoicos, favoreciéndose por una parte la acilación de ácidos saturados y monoenoicos y, dentro de los poliénoicos, el linoleico y ácidos de 22 átomos de carbono. De este modo, la incorporación de los ácidos grasos en la molécula de fosfátidos es la que regula la síntesis de dichos ácidos.

Resumen

Se investigaron los efectos de los ácidos linoleico y linolénico de la dieta sobre los fosfátidos del corazón en ratas mantenidas con una dieta carente de grasa; un grupo de animales recibió un suplemento de colina. Se determinó la composición de los ácidos grasos de los fosfátidos por cromatografía de gases. El ácido linolénico inhibe la incorporación del linoleico y sus derivados en los fosfátidos. En

las ratas que reciben colina se encuentran más ácido linoleico y de ácidos de 22 átomos de carbono, y menos ácido eicosatrienoico en los fosfátidos.

Bibliografía

1. BALINT, J. A., BEELER, D. A., TREBLE, D. H. y SPITZER, H. L.: *J. Lipid Res.*, **8**, 487, 1967.
2. BEST, C. H., CHANNON, H. J. y RIDOUT, J. H.: *J. Physiol.* (Londres), **81**, 409, 1934.
3. BRENNER, R. R. y NERVI, A. M.: *J. Lipid Res.*, **6**, 303, 1965.
4. BRENNER, R. R., DE TOMÁS, M. E. y PELUFFO, R. O.: *Biochim. Biophys. Acta*, **70**, 472, 1963.
5. FOLCH, J., LEE, M. y SLOANE, S.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497, 1957.
6. HOLMAN, T. R.: *Federat. Proc.*, **23**, 1062, 1964.
7. KLENK, E. y OETTE, K.: *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **318**, 86, 1960.
8. KLENK, E. y PFLÜGER, H.: *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **335**, 53, 1963.
9. LANDS, W. E. M. y MERKL, I.: *J. Biol. Chem.*, **238**, 898, 1963.
10. MACHLIN, L. J.: *Nature*, **194**, 868, 1962.
11. MOHRHAUER, H. y HOLMAN, R. T.: *J. Nutrition*, **81**, 67, 1963.
12. PERLMAN, I. y CHAIKOFF, I. L.: *J. Biol. Chem.*, **127**, 211, 1939.
13. RIECKHOFF, I. G., HOLMAN, R. T. y BURR, G. O.: *Arch. Biochem.*, **20**, 331, 1944.
14. RIVERA, M. E.: *R. esp. Fisiol.*, **26**, 245, 1970.
15. RIVERA, M. E.: *R. esp. Fisiol.*, **27**, 245, 1971.
16. STEIN, O. y STEIN, Y.: *Biochim. Biophys. Acta*, **70**, 517, 1963.
17. STOFFEL, W., DE TOMÁS, M. E. y SCHIEFER, H. G.: *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **348**, 882, 1967.

