

Influencia de los ácidos linoleico y linolénico, y de la colina sobre el metabolismo de ácidos grasos de riñón 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 Kidney*. R. esp. Fisiol., 27, 275-282. 1971.

Changes induced by dietary ethyl linoleate plus linolenate and choline in the fatty acid composition of kidney phosphatides were investigated in essential fatty acid-deficient rats. The fatty acid composition of phosphatides was estimated by gas-liquid chromatography. From the compositions found it was deduced that linoleate and linolenate inhibit eicosatrienoic synthesis from oleate; both essential fatty acids are converted into long chain polyenoic fatty acids; linolenate and its derivatives inhibit the incorporation of linoleate and its derivatives into phosphatides. Choline fed-rats show a greater inhibition of eicosatrienoic and arachidonate incorporation into phosphatides, while levels of linoleate and docosahexaenoate increase.

Los diversos tipos de células que se originan en la diferenciación y desarrollo de un organismo pluricelular tienen características fisiológicas y morfológicas propias, que dependen, en parte, de la constitución de sus membranas. Estas están compuestas de proteínas y lípidos fundamentalmente; a menudo se ha sugerido que la función de los lípidos en las mem-

branas es, no sólo de carácter estructural, sino también activa en los mecanismos de transporte (5, 10). Al alterarse la composición de los lípidos de la membrana, en especial de los fosfátidos, se alteran sus propiedades fisicoquímicas y probablemente se originan trastornos funcionales.

Los ácidos polienoicos de 20 y 22 átomos de carbono que forman parte de los fosfátidos en los diversos órganos son, generalmente, del tipo de los ácidos linoleico y linolénico (12, 13, 14), es decir, tienen el primer enlace a la misma distancia del grupo metilo terminal (ω_6 y ω_3 , respectivamente) que en los ácidos indicados, mientras que los dobles enlaces están ordenados en ritmo divinil-metano.

* El presente trabajo forma parte de la tesis doctoral, dirigida por el Prof. E. KIENK y presentada en la Facultad de Farmacia de Madrid.

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

No cabe duda de que los ácidos linoleico y linolénico de la alimentación son el punto de partida de los ácidos grasos poli-enoicos del organismo (18) sin posibilidad de un intercambio entre los diversos tipos. En general, estos ácidos grasos poli-enoicos se encuentran en la posición β de la molécula de fosfátido; en algunos casos, el ácido araquidónico se puede encontrar también en la posición α' .

Existen muy pocos datos sobre la composición de los fosfátidos renales; la composición lipídica de la medula y de la corteza del riñón de conejo es distinta, no sólo en la cantidad de lípidos neutros y fosfátidos, sino en la proporción de los diversos fosfátidos, siendo en ambos casos la fosfatidilcolina la más abundante, seguida de fosfatidiletanolamina. Existen diferencias entre los tejidos de las diversas especies (9), pero, dentro de una misma célula, la composición de las membranas de los diversos orgánulos es semejante. Por otra parte, la edad influye en la proporción de ácidos grasos en cada fosfátido (8). En condiciones normales se encuentran pocos ácidos de la serie del linolénico; predominan los de la familia del linoleico, y muy en especial, el araquidónico.

Se supone que este órgano se comporta de modo similar al corazón en el estado de carencia grasa, y al dar ácidos linoleico y linolénico, y colina en la dieta (23), aunque conservando sus características propias.

Material y métodos

Treinta y cinco ratas macho Sprague Dawley de 4 a 6 semanas de edad fueron alimentadas con una dieta normal (Altromin) durante la primera semana, y con una dieta carente de grasa (4) durante el resto de la experiencia. Se hicieron tres lotes, según los suplementos de la dieta.

Lote I: 75 mg de linoleato de etilo y 75 mg de linolenato de etilo (Hoffmann-

La Roche) por vía oral a partir de la tercera semana.

Lote II: 3 mg de colina diarios mezclados con la dieta y, a partir de la tercera semana, el mismo suplemento de ácidos esenciales que el lote I.

Lote III: ningún suplemento

Al finalizar la tercera semana se sacrificaron tres animales de los lote I y II, y uno del tercero, homogenizando los riñones de cada lote por separado con cloroformo/metanol (2:1, v/v), y extrayendo los lípidos según el método de FOLCH (7). En las semanas siguientes se sacrifican a intervalos de 7 días el mismo número de animales de cada grupo, y se hace la extracción de lípidos según el mismo esquema. La obtención de ácidos grasos de los fosfátidos, así como su análisis y fraccionamiento posterior, se lleva a cabo según métodos indicados en anteriores trabajos (22).

Resultados y discusión

La composición de los ácidos grasos de fosfátidos renales acusa la influencia de la dieta más o menos en el mismo sentido que la de otros órganos estudiados paralelamente (21, 23); en la tabla I se reseña el resultado de la cromatografía de gases de los ácidos grasos.

En los tres grupos se encuentran cantidades apreciables de aldehído de 16 y 18 átomos de carbono, aunque en menor cantidad en el grupo II; esto es explicable, pues se encuentran formando una parte fundamental de la fracción de fosfatidiletanolamina (20).

Los ácidos saturados palmítico y esteárico tienden a disminuir en los lotes I y II, mientras que aumentan en el III; generalmente, se presenta una reciprocidad entre la curva de los ácidos saturados y la del araquidónico en estas pruebas. El suplemento de colina favorece una mayor incorporación de ácido palmítico, mien-

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

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	0,3	0,3	0,3	0,8	0,8	0,7	0,4	0,5	0,3	0,4	0,7	0,5	0,3
16 al ^a	1,0	1,0	1,0	1,0	2,4	0,9	0,9	0,5	0,3	0,1	1,0	1,5	2,4	0,8	0,1
16:0	24,5	25,2	21,7	24,0	23,0	30,9	28,1	27,9	23,8	28,0	22,2	20,1	13,3	22,8	21,4
16:1	2,4	2,5	3,4	2,6	2,3	5,9	4,7	5,2	3,1	3,0	2,8	2,6	2,1	2,5	3,1
18 al ^a	0,7	0,6	0,5	0,3	1,3	0,4	0,2	0,4	0,2	0,6	0,4	0,6	1,4	0,5	0,4
18:0	25,1	24,3	19,0	23,0	17,5	25,0	17,5	21,6	22,0	23,0	20,1	20,9	21,8	20,1	22,4
18:1	21,6	20,9	19,6	19,9	17,0	26,9	22,8	21,2	20,6	18,8	19,8	20,1	20,3	19,9	22,8
18:2	3,5	3,6	6,8	4,9	4,2	3,8	8,1	4,9	8,2	6,8	2,3	2,3	2,5	1,9	2,1
18:3	0,3	0,7	0,2	0,3	0,1	0,1	0,3	0,3	0,3	0,6	—	—	—	—	—
20:3 ^c	2,3	1,7	1,3	1,1	0,8	0,3	0,4	0,4	0,7	0,3	2,4	2,8	3,4	3,8	6,7
20:3 ^c	—	0,6	0,4	0,7	0,7	0,2	0,3	0,5	0,8	0,7	—	—	—	—	—
20:4	12,6	12,6	16,9	15,6	24,8	3,6	10,9	11,7	14,2	12,7	23,0	24,1	27,8	24,4	16,6
20:5	0,6	1,7	3,6	3,3	3,3	0,4	1,1	1,9	1,8	0,9	—	—	—	—	—
22:3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,3	0,9	1,0	1,2	1,1
22:5	0,9	1,7	0,9	0,7	0,3	1,8	1,1	0,9	0,7	0,6	0,9	0,8	0,6	0,9	0,5
22:6	2,4	2,3	1,5	1,6	2,7	1,5	1,9	1,7	1,7	2,3	3,3	2,1	2,6	3,0	2,3

^a Aldehído saturado de 16 ó 18 átomos de carbono.

^b $\Delta^5,8,11$ -C_{20:3}

^c $\Delta^8,11,14$ -C_{20:3}

tras que éste disminuye considerablemente en el caso de carencia grasa.

Típico del estado de carencia es el aumento de los ácidos monoenoicos; éstos disminuyen al suministrar los ácidos esenciales, pero permanecen más elevados en el grupo que recibe colina; quizás explique esto el hecho de que en todos los órganos se registra una menor cantidad de ácidos polienoicos del tipo del oleico en el lote II.

Respecto a los ácidos polienoicos se advierten diferencias claras en los tres grupos: los que no reciben colina sufren las alteraciones más lentamente (tarda

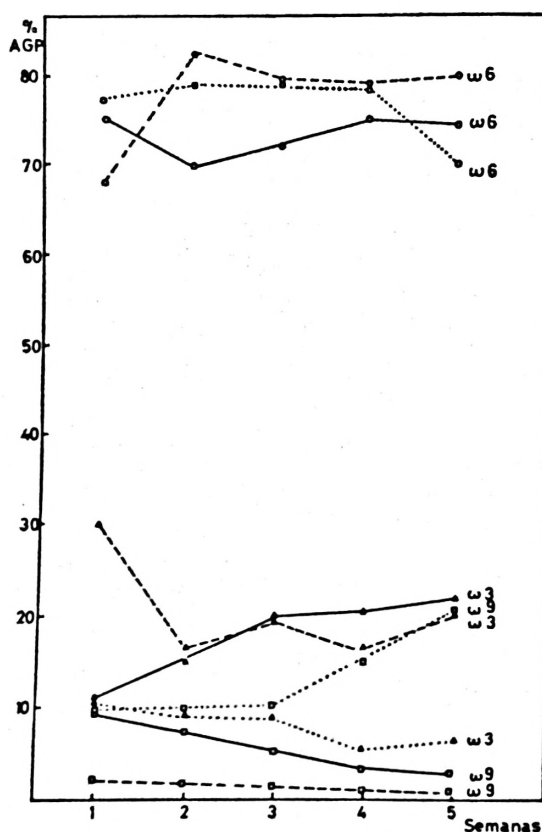


Fig. 1. Distribución de los ácidos grasos polienoicos (AGP) según la serie a que pertenecen.

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

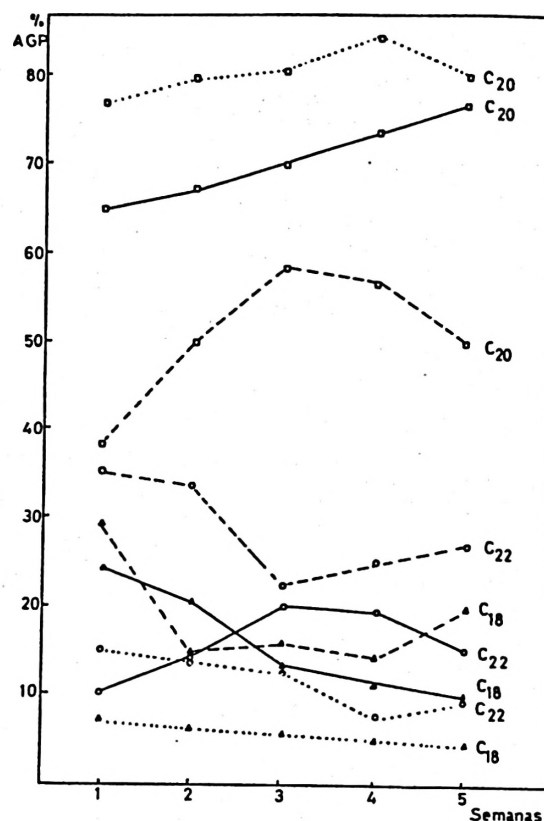


Fig. 2. Distribución de los ácidos grasos polienoicos (AGP) según la longitud de cadena. Lotes: I (—), II (---) y III (···). Datos obtenidos a partir de la cromatografía de gases de los ésteres polienoicos.

más en aparecer el 20:3 en el lote III que en otros órganos; los ácidos linoleico y araquidónico permanecen más o menos estacionarios en su concentración las dos primeras semanas); por otra parte, no se encuentra en este caso reciprocidad entre los ácidos linoleico y araquidónico, como indicó DITTMER (6) para el hígado, y MORGAN (20) en el riñón de conejo, lo que indica una interacción de los ácidos procedentes del linolénico. En contra de lo indicado por KIRSCHMAN (11), encontramos ácidos trienoicos.

Con el fin de poder estudiar mejor los ácidos polienoicos se formaron los aductos de los ésteres grasos totales, y se frac-

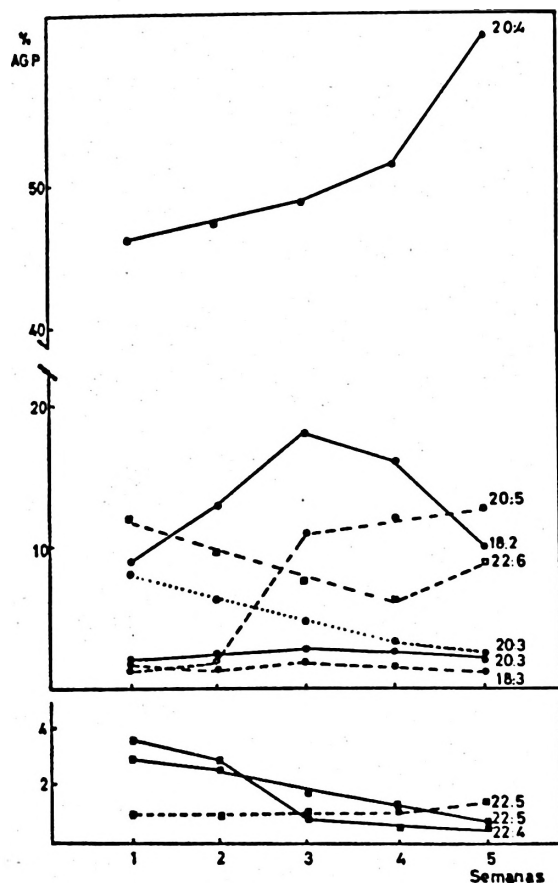


Fig. 3. Efecto de los ácidos linoleico y linolénico de la dieta sobre la composición de los ácidos grasos poliénoicos (AGP) de los fosfátidos renales en ratas privadas de ácidos esenciales en la dieta.

Datos obtenidos a partir de la cromatografía de gases de los ésteres poliénoicos.

cionaron por cromatografía en columna en los ácidos saturados, aductos de los ácidos monoenoicos y de los ácidos poliénoicos, según métodos indicados anteriormente (22).

En las figuras 1 y 2 se indica la distribución global de los ácidos grasos poliénoicos según el tipo a que pertenecen y según la longitud de cadena. El trazado de las curvas de la figura 1 nos indica la existencia de una interferencia en el metabolismo de los ácidos $\omega 6$ por parte de los de la serie $\omega 3$, más patente en el gru-

po que no recibe colina. Esta favorece la incorporación de ácidos de 18 átomos de carbono, especialmente del linoleico (1) y, en nuestras experiencias, también la de ácidos de 22 átomos de carbono (no tenemos ninguna referencia a este respecto), ocurriendo incluso en el riñón, donde hay un predominio patente del araquidónico. Este ácido debe ser importante para los lípidos renales, en primer lugar, por su concentración que tarda también en disminuir en caso de carencia y por la rapidez de su nueva incorporación al suministrar los ácidos esenciales.

La cromatografía de gases de los ácidos poliénoicos da lugar al trazado de las siguientes curvas (figs. 3, 4 y 5).

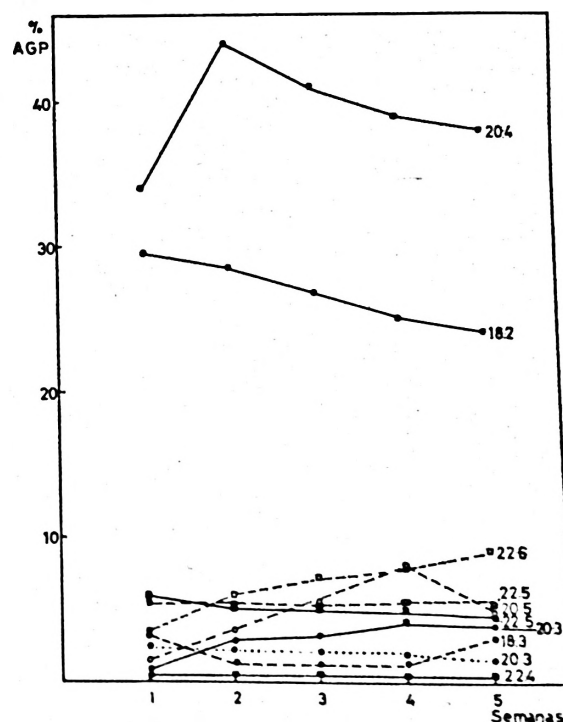


Fig. 4. Efecto de los ácidos linoleico y linolénico de la dieta sobre la composición de los ácidos grasos poliénoicos (AGP) de los fosfátidos renales en ratas alimentadas con dieta carente de grasa, suplementada de colina.

Datos obtenidos a partir de la cromatografía de gases de los ésteres poliénoicos.

La razón 20:4/18:2 (producto metabólico/precursor) en el lote I disminuye al principio, creciendo a continuación; paralela a ésta, está la razón 20:4/20:3 ω 6; la razón 20:4/20:5 no varía, indicando una síntesis equivalente de ambos ácidos, por lo que no parece que, en el caso de los ácidos de 20 átomos de carbono, se produzca una interferencia de la síntesis de araquidónico por ácidos de la familia del linolénico. Pero como al mismo tiempo se produce un incremento del 22:6, paralelo a las razones de araquidónico/precursor, podemos inferir una inhibición.

En el grupo II se incorpora más ácido linoleico que en el primero, por lo que la razón 20:4/18:2 es más baja que en el lote I, y sigue además un transcurso distinto; primero crece y luego disminuye. En cambio, la razón 20:4/20:5 y la razón 20:4/20:3 ω 6 disminuyen a lo largo de las cinco semanas, indicios nuevamente

de una inhibición de la síntesis del ácido araquidónico por ácidos ω 3; los ácidos docosapolienoicos de la serie ω 3 se incrementan asimismo.

Como hemos podido observar, hay una inhibición de la conversión de linoleico en araquidónico por parte de ácidos de la familia del linolénico, y también por la colina, si bien esto último se debe a favorecer la incorporación de linoleico mismo en los fosfátidos. Si no se suministran ácidos esenciales, el ácido oleico se transforma en ácido eicosatrienoico (16), que ocupa la posición β de la molécula de fosfátidos; al suministrar los ácidos linoleico y linolénico, éstos se encuentran en cantidad suficiente para competir con el oleico por los centros activos del enzima (o sistema enzimático) responsable de la deshidrogenación y prolongación de la cadena, dando lugar a ácidos grasos superiores, de la familia correspondiente (15). La inhibición que se presenta al dar conjuntamente los ácidos linoleico y linolénico se debe, según HOLMAN y MOHRHAUER (19), a la diversa afinidad de los distintos ácidos por los centros activos del sistema enzimático, siendo el linolénico el más afín y el oleico el menos afín. Si esto fuera así, tendrían que sintetizarse muchos más ácidos de la familia del linolénico que lo que encontramos en el presente trabajo; por ello suponemos que estos ácidos son igualmente afines —al menos, linoleico y linolénico—, y que es la incorporación a la molécula de fosfátidos, es decir, el enzima acilante, el punto que regula la síntesis de uno u otro tipo de ácidos, suposición que se ve confirmada al observar los diversos resultados obtenidos en el lote que recibe colina.

Resumen

Se investigaron los cambios inducidos por linoleato y linolenato de etilo y por colina en la composición de los ácidos grasos de los fosfátidos en riñón de ratas carentes de ácidos grasos esenciales. La composición de los ácidos

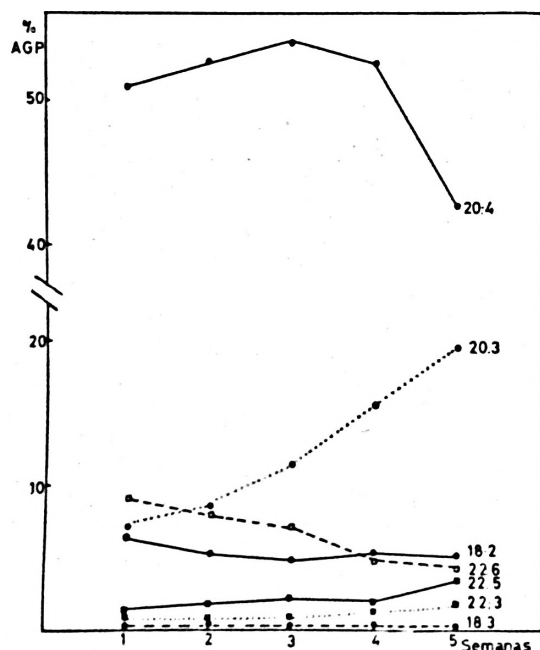


Fig. 5. Efecto de la dieta carente de grasa sobre la composición de los ácidos grasos polienoicos (AGP) de los fosfátidos renales. Datos obtenidos a partir de la cromatografía de gases de los ésteres polienoicos.

grasos se estima por medio de la cromatografía de gases. A partir de ella se deduce que los ácidos linoleico y linolénico de la dieta inhiben la síntesis de ácido eicosatrienoico a partir del oleico; ambos ácidos esenciales se convierten parcialmente en ácidos grasos polienoicos; el ácido linolénico y sus derivados inhibe la incorporación del linoleico y sus derivados en los fosfátidos del riñón. El suministro de colina provoca una mayor inhibición de la síntesis de ácido eicosatrienoico y de la incorporación de ácido araquidónico, mientras que permite incrementarse los niveles de linoleico y docosahexaenoico.

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, J. H. y RIDOUT, J. H.: *J. Physiol.* (Londres), **81**, 409, 1934.
3. BOXER, G. E. y STETTEN, D., JR.: *J. Biol. Chem.*, **153**, 617, 1944.
4. BURR, G. O. y BURR, M. M.: *J. Biol. Chem.*, **82**, 345, 1929.
5. DAVSON, H.: *Circulation*, **26**, 1022, 1962.
6. DITTMER, J. C. y HANAHAN, D. J.: *J. Biol. Chem.*, **234**, 1976, 1959.
7. FOLCH, J., LEE, M. y SLOANE, S.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497, 1957.
8. GLENDE, E. A. y CORNATZER, W. E.: *Biochim. Biophys. Acta*, **125**, 310, 1966.
9. GRAY, G. M. y MACFARLANE, M.: *Biochem. J.*, **81**, 480, 1961.
10. HOKIN, L. E. y HOKIN, M. R.: *Federat. Proc.*, **22**, 8, 1963.
11. KIRSCHMAN, J. C. y CONIGLIO, J. G.: *J. Biol. Chem.*, **236**, 2200, 1961.
12. KLENK, E. y BONGARDT, W.: *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **291**, 104, 1952.
13. KLENK, E. y DREIKE, A.: *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **300**, 113, 1955.
14. KLENK, E. y MONTAG, W.: *J. Neurochem.*, **2**, 226, 1958.
15. KLENK, E. y OETTE, K.: *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **318**, 86, 1960.
16. KLENK, E. y PFLÜGER, H.: *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, **335**, 53, 1963.
17. LANDS, W. E. M. y MERKL, I.: *J. Biol. Chem.*, **238**, 898, 1963.
18. MEAD, J. F. STEINBERG, G. y HOWTON, D. H.: *J. Biol. Chem.*, **205**, 683, 1953.
19. MOHRHAUER, H. y HOLMAN, R. T.: *J. Nutrition*, **81**, 67, 1963.
20. MORGAN, T. E., TINKER, D. O. y HANAHAN, D. J.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **103**, 54, 1963.
21. RIVERA, M. E.: *Dissertation*, Köln, 1968.
22. RIVERA, M. E.: *R. esp. Fisiol.*, **26**, 245, 1970.
23. RIVERA, M. E.: *R. esp. Fisiol.*, **27**, 267, 1971.
24. TINKER, D. J.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **103**, 66, 1963.

