

¿Funciona el tejido adiposo marrón como un depósito de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga durante el desarrollo postnatal del cerebro?

Venezuela Azavache, Carmen Cuevas y Virgilio Bosch R.

Sección de Lipidología. Instituto de Medicina Experimental. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela

RESUMEN. Los mamíferos como el hombre y la rata, poseen durante su desarrollo postnatal temprano un tejido adiposo marrón (TAM) muy activo. En este trabajo se exploró la posibilidad de que el TAM funcione como un depósito de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL), durante el período de máximo crecimiento postnatal del cerebro de rata. En el TAM de ratas de 1, 6, 12 y 20 días de edad analizamos la concentración de triglicéridos (TG) y la composición de ácidos grasos en los TG y fosfolípidos (FL). Además, en ratas de 6 días de edad evaluamos la capacidad del TAM para desaturar 1-¹⁴C ácido linoleico administrado por vía intraperitoneal. Los resultados mostraron un rápido incremento en la concentración de TG durante el período experimental (1,5; 40; 118; 120 mg/g de peso húmedo). El porcentaje de AGPI-CL fue mayor en las ratas de 1 y 6 días de edad que en las de 12 y 20 días (16-17% vs 5%). Por otra parte, la incorporación de 1-¹⁴C ácido linoleico fue más alta en el hígado que en el TAM, aunque la relación “productos desaturados de 1-¹⁴C ácido linoleico / 1-¹⁴C ácido linoleico” fue mayor en el TAM que en el hígado (>4), lo cual podría indicar que este tejido además de almacenar AGPI-CL los sintetiza. En resumen, nuestros resultados demuestran que el TAM es depósito importante de AGPI-CL durante el período de máximo desarrollo postnatal del cerebro. **Palabras clave:** Lípidos, tejido adiposo marrón, cerebro, ácido docosahexaenico, ácido araquidónico.

SUMMARY. Is brown adipose tissue a store of long chain polyunsaturated fatty acids during postnatal developing brain?.

Mammals along their early postnatal period develop a substantial amount of a very active brown adipose tissue (BAT). Through this work we explored the possibility that BAT may function as a long chain polyunsaturated fatty acids reservoir (LC-PUFA) during the rapid growth of brain structures. In new born rats 1, 6, 12 and 20 days old, we analyzed fatty acid percentage of triglycerides (TG) and phospholipid fractions, and the absolute amount of TG. In 6 day old rats we also evaluated the extend of further desaturation of 1-¹⁴C linoleic acid administered by intraperitoneal injection. Results demonstrated a drastic increase of TG concentration during experimental period (1,5; 40; 118; 120 mg/g wet weight) and LC-PUFA percentage was higher in “1 and 6” than “12 and 20” days old rats (16-17% vs 5%). Our results showed that BAT stored important amounts of LC-PUFA. On the other hand, 1-¹⁴C linoleic acid incorporation was higher in liver than BAT. In contrast, the desaturated products of 1-¹⁴C linoleic acid / 1-¹⁴C linoleic acid ratio was greater in BAT than liver (>4). This could indicate that BAT synthesizes LC-PUFA in addition to store it. In summary we demonstrated that BAT is an important reservoir of LC-PUFA during postnatal brain growth.

Key words: Lipids, brown adipose tissue, brain, arachidonic acid, docosahexaenoic acid.

INTRODUCCION

El desarrollo normal del sistema nervioso central (SNC) requiere un suministro adecuado de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL), principalmente de los ácidos araquidónico (C20:4 n-6) y docosahexaenoico (C22:6 n-3) (1-3). Durante el desarrollo fetal se produce una transferencia neta de AGPI-CL desde la placenta hacia el cerebro (4). En el período postnatal estos ácidos grasos son aportados principalmente por la leche materna y por la síntesis endógena (5,6). El hígado y el cerebro han sido los órganos más estudiados, los resultados han revelado que la síntesis en estos órganos inmediatamente después del nacimiento (1 a 20 días de edad) es muy baja (7,8), aunque después de los treinta días de edad ya se ha desarrollado bien la capacidad para la síntesis endógena (9). Estudios en otros órganos o

tejidos no se han realizado, en este sentido resulta interesante considerar la participación del tejido adiposo marrón (TAM), dado que tanto en el hombre como en la rata este tejido exhibe su mayor desarrollo y actividad metabólica durante el período postnatal temprano. Además, el grado de madurez del SNC de los mamíferos recién nacidos se puede correlacionar directamente con la actividad metabólica del TAM (10). Este tejido tiene relaciones importantes con el SNC: presenta una rica inervación simpática que llega a los vasos sanguíneos y también a los adipocitos, esta última característica lo diferencia del tejido adiposo blanco (11,12) y, las evidencias indican que sintetiza leptina (13). En cuanto a su actividad, el TAM de ratas recién nacidas presenta un metabolismo lipídico superior a hígado, tejido adiposo blanco, piel y cerebro (14). La tasa de oxidación de ácidos grasos en el TAM es elevada, pero su actividad lipolítica es aún mayor (15,16), de manera que

el excedente de ácidos grasos podría ser exportado hacia otros órganos o tejidos. También presenta una alta actividad lipogénica (16,17). El propósito de este trabajo fue evaluar la capacidad del TAM para almacenar AGPI-CL, durante el período de máximo desarrollo postnatal del cerebro de rata, a través del análisis del contenido de AGPI-CL en el TAM, y mediante el estudio del metabolismo del $1\text{-}^{14}\text{C}$ ácido linoleico, determinando su incorporación y la presencia de los productos de su desaturación tanto en el TAM como en el hígado.

MATERIALES Y METODOS

Reactivos

Todos los solventes (metanol, etanol, cloroformo, éter etílico y éter de petróleo) y otros reactivos fueron de grado analítico (Merck, Alemania). Se emplearon placas de capa fina de sílica gel G-60 (Merck, Alemania), los reactivos 2,3 dibromofluoresceína; metil ésteres de ácidos grasos, fosfatidilcolina, triestearina, fueron adquiridos a Sigma (St. Louis, USA), y el $[1\text{-}^{14}\text{C}]$ ácido linoleico a Dupon / NEN (Boston, USA).

Animales

Se utilizaron ratas lactantes de ambos sexos de la cepa Sprague Dawley, de 1, 6, 12 y 20 días de edad (entre 6 y 8 por grupo). Las madres se alimentaron con una dieta comercial (Protinal, Valencia, Venezuela).

Extracción de los lípidos del TAM

Las ratas fueron sacrificadas por decapitación entre las 9:00 y 10:00 de la mañana. Posteriormente se extraía de la región interescapular el TAM, se hacía un pool hasta completar entre 0.3 - 0.4 gramos, luego se cortaban finamente y se enjuagaban con solución fisiológica a 4°C y se homogenizaban manualmente. Los lípidos se extrajeron siguiendo el método de Folch y Col. (18)

Determinación de triglicéridos en los lípidos totales del TAM

La concentración de TG en el TAM fue determinada en los lípidos totales mediante el método enzimático descrito por Carr y col. (19). Los resultados se expresan en mg/g de peso húmedo.

Separación de fosfolípidos y triglicéridos del TAM

Los fosfolípidos (FL) y triglicéridos (TG) del TAM, se separaron a partir de los lípidos totales mediante cromatografía de capa de capa fina sobre placas de sílica gel G-60, siguiendo el procedimiento descrito por Mangold (20). Para la corrida se empleó una mezcla de éter de petróleo: éter etílico: ácido acético en la proporción 90:10:1 (v/v/v). Las áreas correspondientes a TG y FL se identificaron mediante el empleo de estándares.

Obtención de los metil-ésteres de los ácidos grasos y separación por cromatografía gas-líquido

Los metil-ésteres de los ácidos grasos se obtenían de acuerdo al método descrito por Chalvardjian (21) con ligeras modificaciones: Los FL y TG raspados de las placas de capa fina se sometían a una reacción de transesterificación con metanol, para ello se empleaba una mezcla de metanol: ácido sulfúrico: tolueno y BHT al 1% como antioxidante, se llevaban a reflujo por una hora a 80°C bajo atmósfera de N_2 . Luego se extraían los metil-ésteres de los ácidos grasos con hexano, se evaporaba todo el solvente bajo una corriente de nitrógeno, luego se resuspendían en 10-20 uL de hexano. Para la separación de los metil-ésteres se inyectaba 1 uL, en un cromatógrafo gas-líquido marca Hewlett Packard e integrador, ambos modelo 5880 A. Las características de la columna fueron las siguientes: columna de vidrio de 4 mm x 183 cm, empacada con polietileno glicol adipato al 4% en peso sobre cromosorb AW de 80 mesh. Las condiciones para la separación fueron: temperatura del horno 200°C ; temperatura del detector de llama 250°C ; gas transportador Nitrógeno, y velocidad del flujo 60cm/min.

Incorporación de $1\text{-}^{14}\text{C}$ ácido linoleico en el TAM e hígado de ratas lactantes de 6 días de edad. Separación de los productos desaturados del ácido linoleico

A las ratas lactantes de 6 días de edad se les administraban por vía intraperitoneal $10\ \mu\text{Ci}$ de $1\text{-}^{14}\text{C}$ ácido linoleico, diluidos en 50 μL de aceite de pescado (pobre en ácido linoleico). Después de 2 y 6 horas, los animales (6 en cada grupo) fueron sacrificados por decapitación, y luego de obtener los hígados y TAM, se extrajeron los lípidos totales como se describió anteriormente. Para separar el ácido $1\text{-}^{14}\text{C}$ linoleico de sus productos desaturados, primero se obtenían los metil-ésteres de los ácidos grasos, como también se explicó, y luego éstos se separaban sobre placas de sílica gel G-60 impregnadas en nitrato de plata al 10%. Como solvente se empleó una mezcla de hexano: dietiléter en proporción 85:15 (v/v). Para visualizar el ácido linoleico y sus productos, la placa se rociaba con 2' 7' dibromofluoresceína al 1% en etanol, y las manchas se visualizaban bajo luz UV. La identificación se realizó mediante el empleo de estándares. Las zonas identificadas se raspaban y se colocaban en viales que contenían 10 mL de una solución de PPO / POPOP en tolueno, y la radioactividad se midió en un contador 1219 Rack Beta LKB (Suecia).

Análisis estadístico

Se emplearon las pruebas de ANOVA de una vía, prueba de Tuckey y t de Student.

RESULTADOS

En la Tabla 1, se presentan el peso del TAM de las ratas durante los primeros 20 días de la vida postnatal. En la primera semana el TAM representaba cerca del 1% del peso corporal y hacia el final del estudio un 0,5%. A simple vista se pudo observar que hasta el día doce, el TAM de las ratas era de color oscuro y muy bien delimitado, después se tornaba pálido y los límites se hacían difusos. La concentración de triglicéridos antes del inicio de la lactancia fue escasa (1.5 mg/g de peso húmedo), pero después comenzó una rápida acumulación de éstos, a los 12 días de edad la concentración ya sobrepasaba los 100 mg/g de peso húmedo. En la Tabla 2 se presenta la distribución porcentual de AG en los TG del TAM. Se puede apreciar que desde el nacimiento hasta los 6 días de edad, las proporciones de ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI) fueron similares. A los 6 días de edad, los AGPI-CL representaban más del 21% del total de ácidos grasos, los más abundantes fueron el 20:3n-6 y el 20:4 n-6 (9.36 y 6.14 % respectivamente), y en menor proporción el 22:5n-3 (2,16%) y el 22:6n-3 (1,99%). Después de este período, la composición cambió significativamente, el porcentaje de AGS aumentó por encima del 45% y ocurrió un descenso en los AGPI, debido principalmente a la disminución del C20:3 n-6 y C20:4 n-6 (p<0.05) (porcentajes menores al 2%). La Tabla 3 muestra la composición de AG en los fosfolípidos del TAM; el porcentaje de AGS fue más o menos constante, alrededor del 33%, y sólo estaban presentes el C16:0 y el C18:0, este último fue el más abundante después del inicio de la lactancia. El porcentaje de los AGMI descendió considerablemente después del primer día, de 20% a 10% aproximadamente (p<0.05), lo que fue contrarrestado por un aumento de los AGPI n-6, principalmente del C20:3 n-6 y C20:4 n-6 (p<0.05). También se observó una disminución significativa del C22:6 n-3, después de la primera semana.

TABLA 1

Pesos: corporal, del tejido adiposo marrón (TAM) y del hígado; y concentración de triglicéridos en el tejido adiposo marrón de ratas lactantes

Edad (días)	Peso corporal (g)	TAM (g)	Hígado (g)	TG-TA mg/g peso húmedo
1	7.4 ± 0.5	0.08 ± 0.01	0.17 ± 0.03	1.5 ± 0.3
6	11.0 ± 1.0	0.08 ± 0.03	0.23 ± 0.03	40 ± 9.0
12	24.6 ± 0.7	0.11 ± 0.05	0.68 ± 0.05	118 ± 11
20	30.0 ± 1.5	0.19 ± 0.03	0.83 ± 0.13	114 ± 16

Cada punto representa el promedio ± DS de 6-8 ratas.

TABLA 2

Porcentaje de ácidos grasos en los triglicéridos totales del tejido adiposo marrón de ratas lactantes

% Ácido graso	Edad			
	1 Día	6 Días	12 Días	20 Días
10:0	0.88 ± 0.11	tr	tr	0.95 ± 0.30
12:0	0.62 ± 0.13 ^a	0.68 ± 0.11 ^a	5.50 ± 0.33 ^b	6.21 ± 0.50 ^b
14:0	2.04 ± 0.13 ^a	3.27 ± 0.37 ^a	8.95 ± 0.37 ^b	8.02 ± 0.13 ^b
16:0	16.53 ± 1.10 ^a	18.43 ± 0.51 ^a	23.70 ± 0.71 ^b	21.54 ± 0.26 ^b
18:0	5.83 ± 0.28	7.91 ± 0.44	4.56 ± 0.19	6.17 ± 0.11
ÓAGS	25.43 ± 3.62 ^a	30.28 ± 1.31 ^a	44.49 ± 1.35 ^b	42.89 ± 1.20 ^b
16:1	3.79 ± 0.60 ^a	2.18 ± 0.04 ^a	1.70 ± 0.13	1.89 ± 0.03
18:1	20.66 ± 1.88 ^a	18.62 ± 0.31 ^a	24.91 ± 1.28 ^b	25.11 ± 0.54 ^b
ÓAGMI	24.4 ± 3.73 ^a	21.16 ± 1.08 ^a	28.05 ± 0.88 ^b	26.99 ± 1.05
18:2	13.61 ± 1.27	21.82 ± 0.48	18.48 ± 0.56	19.98 ± 0.27
18:3n-6	2.88 ± 0.67	0.97 ± 0.04	0.48 ± 0.03	0.40 ± 0.03
18:3n-3	2.31 ± 0.16	tr	0.38 ± 0.06	0.76 ± 0.07
20:3n-6	5.26 ± 1.24 ^a	9.36 ± 0.08 ^a	1.06 ± 0.06 ^b	0.70 ± 0.10 ^b
20:4n-6	4.17 ± 0.27 ^a	6.14 ± 0.17 ^a	1.67 ± 0.20 ^b	0.92 ± 0.06 ^b
22:4n-6	1.26 ± 0.27 ^a	2.31 ± 0.1 ^a	0.63 ± 0.03 ^b	0.40 ± 0.02 ^b
TR31'	1.09 ± 0.33	tr	tr	0.18 ± 0.01
22:5n-3	1.48 ± 0.29 ^a	2.16 ± 0.36 ^a	0.72 ± 0.17 ^b	0.95 ± 0.02 ^b
22:6n-3	1.91 ± 0.28 ^a	1.99 ± 0.03 ^a	1.14 ± 0.19 ^b	1.37 ± 0.08 ^b
ÓAGPI	34.77 ± 4.57 ^a	42.31 ± 2.16 ^a	23.92 ± 0.94 ^b	26.65 ± 1.08 ^b
ÓAGPI-CL	14.27 ± 1.47 ^a	17.66 ± 2.65 ^a	4.31 ± 0.36 ^b	4.52 ± 0.22 ^b

Cada valor representa el promedio ± error estándar, n = 5 para cada grupo; Los valores con letras distintas son estadísticamente significativas (P< 0.05); TR31' representa un ácido graso no identificado cuyo tiempo de retención fue de 31 minutos; tr = traza < 0.1%; AGPI-CL: ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

TABLA 3

Composición porcentual de ácidos grasos en los fosfolípidos totales del tejido adiposo marrón de ratas lactantes

% de AG	Edad			
	1 día	6 días	12 días	20 días
16:0	18.20 ± 0.33 ^a	13.97 ± 0.75 ^b	14.31 ± 0.10 ^b	12.09 ± 0.64 ^b
18:0	13.98 ± 0.17 ^a	19.18 ± 1.06 ^b	20.07 ± 0.30 ^b	20.62 ± 0.59 ^b
ÓAGS	32.18 ± 0.46	33.16 ± 1.81	34.38 ± 0.02	32.72 ± 0.08
16:1	2.76 ± 0.06 ^a	1.03 ± 0.21 ^b	tr	0.79 ± 0.09 ^b
18:1	17.54 ± 0.41 ^a	9.58 ± 0.50 ^b	9.81 ± 0.35 ^b	11.52 ± 0.48 ^b
ÓAGMI	20.34 ± 0.75 ^a	10.26 ± 0.45 ^b	10.16 ± 0.29 ^b	12.32 ± 0.51 ^b
18:2	10.99 ± 0.22 ^a	10.97 ± 0.55 ^a	13.64 ± 0.21 ^a	19.49 ± 0.42 ^b
18:3n-6	0.45 ± 0.17	1.43 ± 0.03	tr	tr
18:3n-3	0.27 ± 0.02	tr	tr	tr
20:3n-6	2.59 ± 0.30 ^a	6.90 ± 1.02 ^b	6.39 ± 1.14 ^b	5.31 ± 1.55 ^b
20:4n-6	16.30 ± 0.51 ^a	20.17 ± 0.61 ^b	22.13 ± 0.50 ^b	19.05 ± 0.51 ^b
22:4n-6	1.20 ± 0.04	tr	1.37 ± 0.08	tr
TR31'	1.10 ± 0.04	1.27 ± 0.17	0.59 ± 0.07	tr
22:5n-3	0.93 ± 0.03	1.86 ± 0.31	1.67 ± 0.11	1.75 ± 0.20
22:6n-3	8.45 ± 0.30 ^a	5.48 ± 0.20 ^b	4.69 ± 0.44 ^b	5.71 ± 0.18 ^b
ÓAGPI	42.21 ± 0.34	47.65 ± 1.96	46.85 ± 3.61	45.31 ± 5.38
ÓAGPI-CL	28.88 ± 1.00 ^a	35.52 ± 1.76 ^b	35.78 ± 1.4 ^b	32.60 ± 1.27 ^b

Los valores representan el promedio de al menos 5 determinaciones ± ESM. Las diferencias significativas se representan con distintos superíndices (P< 0.05). TR31' representa un ácido graso no identificado cuyo tiempo de retención fue de 31 minutos; tr = traza < 0.1 %; AGPI-CL: ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

La Tabla 4 muestra los resultados de la incorporación de $1\text{-}^{14}\text{C}$ ácido linoleico y los productos desaturados de éste, en el hígado y en el TAM de las ratas de 6 días de edad. Se aprecia que la incorporación de $1\text{-}^{14}\text{C}$ ácido linoleico en el hígado fue aproximadamente 10 veces mayor que en el TAM, sin embargo la relación en d.p.m entre los productos desaturados de $1\text{-}^{14}\text{C}$ ácido linoleico / $1\text{-}^{14}\text{C}$ ácido linoleico (PD/AL) fue más alta en el TAM que en el hígado, tanto a las 2 horas como a las 6 horas después de la inyección intraperitoneal.

TABLA 4
Incorporación de [$1\text{-}^{14}\text{C}$] ácido linoleico y sus productos desaturados en el tejido adiposo marrón e hígado de ratas de seis días de edad

	TAM			Hígado		
	AL(dpm)	PD (dpm)	PD/AL	AL (dpm)	PD (dpm)	PD/AL
2 horas	4658 ± 1362	2.272 ± 892	0.48	22.236 ± 13.900	2183 ± 788	0.10
6 horas	2682 ± 701	1616 ± 474	0.60	8.863 ± 3883	1669 ± 311	0.18

AL: ácido linoleico; PD: productos desaturados del ácidolinoleico; PD/AL relación entre productos desaturados del ácido linoleico y ácido linoleico.

La radioactividad se expresa como dpm/g de peso húmedo.

Los valores representan el promedio ± DS de seis determinaciones independientes.

DISCUSION

La baja concentración de TG en el TAM (1.5 ± 0.3 mg/g peso húmedo), observada en las ratas de 1 día de edad, indica que este tejido no puede representar un reservorio importante de ácidos grasos durante el desarrollo prenatal. Sin embargo, después del nacimiento, la rápida acumulación de TG que se inició con la lactancia, así como la alta proporción de AGPI-CL que se observó a los 6 días de edad (40 mg de TG/g de peso húmedo y aproximadamente 23% de AGPI-CL) indican que durante la primera semana el TAM acumuló una considerable cantidad de AGPI-CL, especialmente de la familia n-6 y en menor grado de la n-3, y aunque después de este período la proporción de todos los AGPI-CL disminuyó a un 5%, se puede estimar que la cantidad total almacenada fue siempre elevada, ya que la concentración de TG casi se triplicó entre los días 6 y 12 de edad y en adelante permaneció alta (más de 100 mg de TG/g de peso húmedo; Tabla 1). Se puede considerar entonces que el TAM en las ratas recién nacidas, además de cumplir con su función termogénica, podría funcionar como un importante depósito de AGPI-CL, los cuales podrían ser suministrados a los órganos y tejidos que se están desarrollando rápidamente en ese período, especialmente al cerebro por presentar la mayor tasa de crecimiento y por el alto requerimiento que tiene de C20:4n-6 y C22:6n-3. Este planteamiento se fundamenta también, en observaciones realizadas por otros investigadores, por ejemplo: El TAM exporta diversas sustancias, entre estas ácidos grasos (22). La

exportación de ácidos grasos puede ser significativa en el TAM, ya que su actividad lipolítica supera la capacidad oxidativa de ácidos grasos (15,16). Además, estudios *in vitro* han demostrado que el grado de movilización de los ácidos grasos C20:5 n-3; C20:4n-6; C20:3n-6 y C22:6n-3 es más alta que la observada para C16:0 y C18:2n-6, a pesar de que éstos son más abundantes que los primeros (23).

Nuestro planteamiento es similar al propuesto por Speake y colaboradores (23), quienes observaron que en el tejido adiposo de embriones de pollo ocurría una acumulación de AGPI-CL, y que la concentración de éstos disminuía durante el crecimiento de los tejidos neurales. En base a estos resultados, propusieron que el tejido adiposo de los embriones de pollo posiblemente funcionan como un intermediario en la transferencia de los AGPI-CL desde la yema hacia los tejidos neurales.

Por otra parte, Lefkowitz y col. (9) hacen una observación importante sobre la posible presencia de depósitos de AGPI-CL durante el período de rápido crecimiento del cerebro en la vida postnatal de la rata. Ellos suministraron d5-C18:3 n-3, como única fuente de

AGPI n-3, a un grupo de ratas desde los 7 hasta los 28 días de edad. Al examinar la composición de AG del cerebro al final del período experimental, encontraron que el 40% de C22:6 n-3 acumulado estaba sin marcar con deuterio, es decir, que durante la primera semana de nacidas, las ratas habían almacenado una cantidad importante de C22:6 n-3. En este sentido, nuestros resultados evidencian que los TG del TAM representan un depósito cuantitativamente importante de AGPI-CL, especialmente de C20:4n-6, de su precursor C20:3 n-6 y, en menor proporción de C22:5 n-3 y C22:6 n-3.

En los FL también se observó un enriquecimiento de AGPI-CL n-6 con el inicio de la lactancia (en un 10% o más) y, en adelante la composición de éstos no cambió significativamente. Es decir, en los FL a diferencia de Los TG no se apreció un cambio acentuado en la composición de AG después de la primera semana de edad, probablemente por la función estructural y funcional que cumplen estos lípidos. Sin embargo, no se descarta que durante el proceso normal de involución del TAM, que ocurre durante el crecimiento de los mamíferos, la degradación de los FL de las membranas mitocondriales, muy abundantes en el tejido activo (10), pueda aportar al plasma cantidades importantes de AGPI-CL.

Por otra parte, la presencia de productos desaturados del $1\text{-}^{14}\text{C}$ ácido linoleico, tanto en el hígado como en el TAM, a las 2 y 6 horas después de la inyección intraperitoneal de $1\text{-}^{14}\text{C}$ ácido linoleico, indican que en algún grado ocurrió síntesis de AGPI-CL en las ratas de 6 días de edad (edad en la cual se observó la mayor concentración de AGPI-CL en TG). Aunque la incorporación total de $1\text{-}^{14}\text{C}$ ácido linoleico fue mayor en el hígado que en el TAM, es significativo resaltar

que la relación en d.p.m. entre “los productos desaturados del 1-¹⁴C ácido linoleico / 1-¹⁴C ácido linoleico” (PD/AL) fue aproximadamente cuatro veces mayor en el TAM que en el hígado (Tabla 4). Estos resultados, aunque muy preliminares, podría indicar que en el TAM se sintetizan AGPI-CL con mayor eficiencia que en el hígado.

En conclusión, nuestros resultados revelan que el TAM es un depósito cuantitativamente importante de AGPI-CL durante los primeros días de la vida postnatal de la rata. Es probable que estos ácidos grasos provengan principalmente de la leche materna y, en alguna extensión de la síntesis endógena. Tomando en conjunto, nuestros resultados y los de otros investigadores (9,15,16,22,23), nosotros proponemos que el TAM tiene un alto potencial para contribuir con el mantenimiento de la alta concentración de AGPI-CL encontrada en el plasma de ratas recién nacidas (24), durante el período de máximo crecimiento postnatal del cerebro.

REFERENCIAS

- Crawford MA. The accumulation of arachidonate and docosahexaenoate in the developing rat brain. *J Neurochem.* 1972;19:1753-1758.
- Crawford MA, Hassam AG, Williams G, Whitehouse WL. Essential fatty acids and fetal brain growth. *Lancet.* 1976; 28: 452-453.
- Crawford MA, Golfetto I, Ghebremeskel K, Min Y, Moodley T, Poston L, Phylactos A, Cunnane S, Schmidt W. *Lipids.* 2003;38:303-315.
- Naughton JM. Supply of polyenoic fatty acids to the mammalian brain: the case of conversion of the short-chain essential fatty acids to their longer chain polyunsaturated metabolites in liver, brain, placenta and blood. *Int J Biochem.* 1981; 13: 21-32.
- Sinclair AJ. Fatty acid composition of liver lipids during development of rat. *Lipids* 1974; 9: 809-818.
- Szitanyi P, Koletzko B, Mydlilova A, Demmelmair H. Metabolism of 13 C- labeled linoleic acid in newborn infants during the first week of life. *Pediatr Res.* 1999; 45: 669-673.
- Cook HW. *In vitro* formation of polyunsaturated fatty acids by desaturation in rat brain: some properties of the enzymes in developing brain and comparisons with liver. *J Neurochem.* 1978; 30: 1327-1334.
- Azavache V, Cuevas C, Bosch V. Participación del hígado en el suministro de ácidos grasos esenciales poliinsaturados de cadena larga durante el desarrollo postnatal del cerebro de rata. *Arch Latinoamer Nutr.* 1998;148:216-220.
- Lefkowitz W, Lim SY, Lin Y, Salem N Jr. Where does the developing brain obtain its docosahexaenoic acid? Relative contributions of dietary alpha linolenic acid, docosahexaenoic acid and body stores in the developing rat. *Pediatr Res.* 2005; 57 (1): 157-165.
- Cannon B, Nedergard J. Brown adipose tissue thermogenesis in neonatal and cold-adapted animals. *Biochem Soc Trans.*1986;14: 233-236.
- Jankovic BD. Brown adipose tissue. *Ann N.Y. Acad Sci.*1987; 496: 3-26.
- Nedergard J, Lindberg O. The brown fat cell. *Inter Rev Cytol.*1982;74: 187-286.
- Dessolin S, Schalling M, Champigny O, Lonnqvist F, Ailhaud G, Dani C, Ricquier D. Leptin gene is expressed in rat brown adipose tissue at birth. *FASEB J.* 1997;11:382-387.
- Hahn P. Lipid synthesis in various organs of the rat during postnatal development. *Biol Neonate* 1986; 50: 205-213.
- Nicolls DG, Locke R. Thermogenic Mechanisms in Brown Fat. *Physiol Rev.* 1984; 64:1-64.
- Hardman MJ, Hull D. Fat metabolism in brown adipose tissue *in vivo.* *J Physiol.* 1970; 206:263-273.
- Moura MAF, Kawashita NH, Brito SMRC, Brito MN, Kettelhut IC, Migliorini RH. Effect of cold acclimation on brown adipose tissue fatty acid synthesis in rats adapted to a high protein, carbohydrate-free diet. *Metabolism.* 2001;50:1493-1498.
- Folch J, Lees M, Sloane SH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem.* 1957;226:497-509.
- Carr TP, Andresen, CJ Rudel LL. Enzymatic determination of triglyceride, free cholesterol and total cholesterol in tissue lipid extracts. *Clin Biochem.* 1993;26:39-42.
- Mangold HK. Aliphatic Lipids. En Sthal E. editor. *Thin-Layer Chromatography.* 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 1966. p. 363- 421.
- Chalvardjian AM. Fatty acids of brown and yellow fat in rats. *Biochem J.* 1964; 90:518-521.
- Jansky L. Contribution of striated muscles to regulatory heat production. *Experientia* 1977;33:123-1124.
- Speake BK, Cerolini S, Maldjian A, Nobel RC. The preferential mobilisation of C20 and C22 polyunsaturated fatty acids from the adipose tissue of chick embryo: potential implications regarding the provision of essential fatty acids for neural development. *Biochem Biophys Acta* 1997;1345:317-326.
- Nouvelot A, Delbart C, Bourre JM. Hepatic metabolism of dietary alpha linolenic acid in suckling rats, and its possible importance in polyunsaturated fatty acid uptake by the brain. *Ann Nutr Metab.* 1986;30:316-323.

Recibido: 28-03-2006

Aceptado:16-10-2006