

COMPOSICION LIPIDICA Y CONTENIDO EN ACIDOS GRASOS DEL MUSCULO *Longissimus dorsi* DE CORDEROS DE RAZA «CHURRA» (4-6 SEMANAS); CAMBIOS EXPERIMENTADOS EN LOS ANIMALES AFECTOS DE MIODISTROFIA NUTRICIONAL ENZOOTICA*

*Por J. Zumalacárregui Rodríguez
y J. Burgos González*

INTRODUCCION

Tanto las distrofias de tipo hereditario como las nutricionales suelen ir acompañadas de un aumento en el contenido lipídico intramuscular.

En la distrofia hereditaria del pollo se ha demostrado un incremento considerable del contenido lipídico que es especialmente acusado en la de tipo atrófico (JORDAN y col. 1964; PETERSON y col. 1968; PETERSON y LYLIBLADE, 1969; CHIO y col. 1972).

El incremento del contenido lipídico intramuscular ha sido señalado también en los conejos (GOETTSCH y BROWN, 1932), cobayos (GOETTSCH y PAPPENHEIMER, 1931) y ratones (PAPPENHEIMER, 1948) afectos de avitaminosis E y en los terneros afectos de distrofias nutricionales de presentación enzoótica (POUKKA, 1966) o de origen experimental (BLAXTER y WOOD, 1952).

En la distrofia de tipo nutricional de los terneros las fracciones lipídicas que mayor incremento sufren son los triglicéridos y el colesterol libre (POUKKA, 1966).

Estudios de este tipo son muy escasos en los óvidos, especialmente en los afectos de distrofias nutricionales; en las de origen experimental solamente se conoce las variaciones inducidas en la composición en ácidos grasos de la grasa total (ERWIN y col. 1961; PENDELL y col. 1969) o de los fosfolípidos totales (DEMILLE y col. 1972).

* Este trabajo forma parte de algunas investigaciones descritas en la tesis doctoral de la que es autor don José Zumalacárregui Rodríguez.

En el presente trabajo se pretende estudiar la composición lipídica y el contenido en ácidos grasos de las distintas fracciones que los contienen del músculo *Longissimus dorsi* de los corderos de raza «Churra» y las alteraciones sufridas por los músculos de los corderos afectos de midostrofia nutricional enzoótica.

MATERIAL Y METODOS

La procedencia de los animales y la preparación de las muestras es idéntica a la descrita en un trabajo previo (ZUMALACÁRREGUI y BURGOS, 1976).

La extracción y purificación de los lípidos presentes en el músculo fue realizada siguiendo la técnica de FOLCH y col. (1957).

El fraccionamiento de los lípidos totales se llevó a cabo por cromatografía en columna de ácido silílico/celita (1/1), usándose como eluyentes las siguientes 3 fases móviles: cloroformo, para arrastrar los lípidos neutros, acetona para eluir los glicolípidos y metanol para arrastrar los fosfolípidos.

El fraccionamiento de los lípidos neutros y fosfolípidos se llevó a cabo por cromatografía en lámina fina sobre sílica gel typ 60 y PF 254; las cromatografías se desarrollaron en las siguientes mezclas de disolventes:

lípidos neutros: éter de petróleo/éter etílico/ácido acético (80/20/1).

fosfolípidos: cloroformo/metanol/agua (65/25/4).

Los reactivos empleados para el revelado de las láminas finas fueron los siguientes: Iodo, ácido sulfúrico, ninhidrina (WAGNER y col. 1961), iodo-ioduro potásico, azul de molibdeno (DIRTMER y LESTER, 1964), rodamina 6G, periodato-Schiff (SHAW, 1968) y leuco-azul de metileno.

La cuantificación de los distintos componentes se llevó a cabo:

- 1) Los triglicéridos, hidrocarburos y glicéridos parciales por pesada.
- 2) El colesterol por la técnica de MOORE y BAUMAN (1952).
- 3) Los ácidos grasos libres por titulación con NaOH 0,01N, teniendo en cuenta el peso molecular del ácido graso promedio.
- 4) La ubiquinona por el método de CRANE (1959).
- 5) Los distintos fosfolípidos por el contenido en fósforo, determinado según el método de CHEN y col. (1956).

Para la formación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos que forman parte de los glicéridos y fosfolípidos se utilizó el método de transesterificación de SHIHTA y col. (1970) y para la de los ácidos grasos libres la de SCHLENK y GELLERMAN (1960).

Para la identificación y posterior cuantificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos se utilizó un cromatógrafo de gases «Perkin-Elmer» mod. F-11; se emplearon columnas de vidrio cargadas con dietilen - glicol - succinato sobre CROMOSORB (80-100 mallas) lavado al ácido y tratado con hexametil-disilazano.

Las condiciones de la cromatografía fueron las siguientes:

Flujo de nitrógeno: 35 mls/min.

Flujo de aire: 300 mls/min.

Flujo de hidrógeno: 32 mls/min.

Temperatura del bloque de inyección: 215°C.

Temperatura del detector de llama: 210°C.

Velocidad de la carta: 5 mm/min.

Programa de temperatura: 100-190°C o 100-180°C hasta el C-18:2 y después 190°C (utilizando siempre un incremento de temperatura de 8°C/min).

Para la identificación del colesterol (basada en los tiempos de retención de la fracción esterolos libres sometida a cromatografía en fase gaseosa) se usaron columnas de vidrio llenadas con SE-30 al 1 % sobre Gas-Chrom Q (80-100 mallas). Las condiciones de la cromatografía fueron las siguientes:

Nitrógeno: flujo de 95 mls/min.

Aire: flujo de 200 mls/min.

Hidrógeno: flujo de 90 mls/min.

Bloque de inyección: 230°C.

Detector de llama: 235°C.

Temperatura de la columna: 211°C (desarrollo isotérmico).

RESULTADOS

Contenido lipídico total

El contenido lipídico total del músculo *Longissimus dorsi* de corderos sanos y distróficos queda recogido en la Tabla I. La Tabla II recoge el contenido total en lípidos neutros, glicolípidos y fosfolípidos.

TABLA I
Contenido lipídico total en el músculo «Longissimus dorsi» de corderos sanos y enfermos, expresado en términos de grs/100 grs de músculo

	Controles	Distróficos	
1	1,77	A	2,91
2	2,39	B	2,26
3	2,06	C	2,44
4	2,03	D	2,80
5	2,31	E	2,88
6	2,36	F	3,99
		G	2,82
		H	3,62
—X	2,15		2,96
D.T.	0,23		0,57
«t»		3,616**	

TABLA II

Contenido total en lípidos neutros, glicolípidos y fosfolípidos del músculo «Longissimus dorsi» de 6 corderos sanos y 8 afectos de la mioldistrofia nutricional enzoótica, obtenidos a partir del extracto lipídico por fraccionamiento en columna de ácido silílico/celita (1/1). Los resultados se expresan en términos de mgs/100 grs de músculo y en porcentaje del extracto lipídico total

	mgs/100 grs de músculo		Sign.	% del extracto lipídico		Sign.
	Sanos	Distróficos		Sanos	Distróficos	
Lípidos neutros	961,0 ±185,4	1.897,9 ±583,1	P<0,01	44,3 ±4,4	62,9 ±7,9	P<0,001
Glicolípidos	50,3 ±40,3	52,0 ±35,0	P>0,05	2,1 ±1,6	1,6 ±0,9	P>0,05
Fosfolípidos	1.141,3 ±66,7	1.014,5 ±154,8	P>0,05	53,4 ±5,6	35,36 ±8,9	P<0,001

Identificación de los distintos lípidos neutros

La identificación y posterior cuantificación de los distintos componentes de la fracción lípidos neutros (eluidos de la columna de ácido silílico-celita con cloroformo) se llevó a cabo por cromatografía en lámina fina.

Para la caracterización de los diversos componentes se depositaron alícuotas en 4 láminas finas de sílica gel y se desarrollaron unidimensionalmente utilizando como fase móvil la descrita en material y métodos. Junto con patrones de tripalmitina, ácido oleico, colesterol, oleato de colesterol, mono y diglicéridos y ubiquinona (Q-10).

Una placa fue revelada con iodo, otra con ácido sulfúrico, una tercera con rodamina 6G y la cuarta con el reactivo de leuco-azul de metileno; se detectaron tanto en los músculos de los animales sanos como en los enfermos 9 componentes diferenciables por su comportamiento cromatográfico (Fig. I).

La identificación de cada uno de los componentes se basó en primer lugar en la identidad de sus Rfs con los de los patrones utilizados, identificándose exclusivamente por este método los monoglicéridos (mancha n.º 9), los diglicéridos (n.º 8), los triglicéridos (3) y los ácidos grasos libres (5); para la identificación del resto de las manchas se tuvieron además en cuenta los siguientes criterios:

1) La mancha n.º 6 mostró color rojo frente al reactivo de ácido sulfúrico en los primeros minutos de calentamiento; extraída de las láminas finas y disuelta en etanol mostró un espectro ultravioleta inespecífico; cromatografiada sobre Gas Chrom Q, en las condiciones descritas en material y métodos, mostró un solo pico con un tiempo de retención idéntico al de una muestra patrón de colesterol. Fue identificada como colesterol libre.

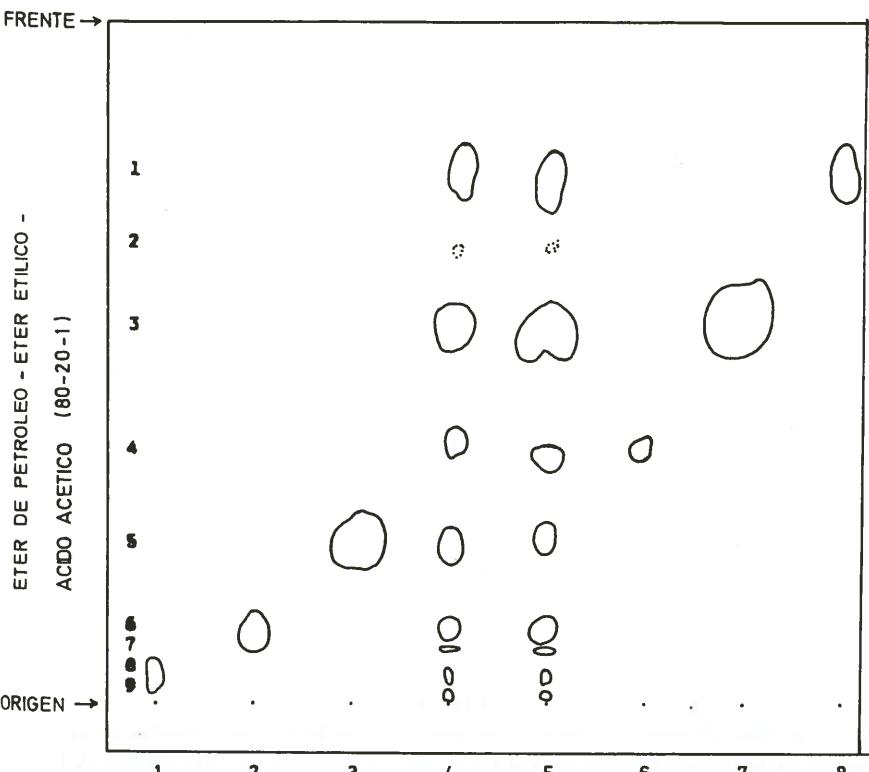


Fig. 1.—Cromatografía en lámina fina de sílica gel «G» de dos muestras de lípidos neutros (4 y 5) del músculo *Longissimus dorsi* de corderos sanos y enfermos, respectivamente, junto con patrones de: mono y diglicéridos (1), colesterol (2), ácido oleico (3), Q-10 (6), tripalmitina (7) y oleato de colesterol (8), empleando como fase móvil una mezcla de éter de petróleo - éter etílico - ácido acético en las proporciones (80-20-1).

2) La mancha n.º 7 fue imposible de separar de la n.º 6, dando las muestras de colesterol, impurificadas por este componente, en la cromatografía en fase gaseosa un solo pico (el del colesterol).

3) La mancha n.º 4 adquirió un color azul intenso con el reactivo de leuco-azul de metileno; disuelta en etanol mostró un espectro ultravioleta con un máximo a 275 mn que descendía en intensidad y se desplazaba hacia longitudes de onda más largas al añadir unos cristalitos de borohidruro potásico; quedó así demostrado que contenía ubiquinona.

Para identificar el homólogo presente se impregnaron placas de sílica gel en parafina líquida (BOLLIGER, 1962) se depositaron alícuotas procedentes de cada uno de los corderos y patrones de Q-10, Q-9 y Q-5. Las láminas desarrolladas en una mezcla de acetona/agua (95/5) se revelaron con el reactivo de leuco-azul de metileno, observándose que la ubiquinona presente en mayor cantidad era la Q-10, aunque en algunas muestras se detectó, así mismo, la presencia de Q-5 en cantidades que oscilaban entre un 10 y un 30 % del contenido de ubiquinona.

4) Las manchas n.º 1 y 2 fueron imposibles de separar en lámina fina, por lo que se sometió conjuntamente a diversos análisis posteriores. La mancha n.º 1 mostró frente al reactivo de ácido sulfúrico una coloración rojiza, demostrándose por lo tanto la presencia de ésteres de esteroles.

El material de ambas manchas fue conjuntamente saponificado y el insaponificable extraído con éter etílico, el extracto etéreo obtenido se cromatógrafió en columna de alumina grado Brockman III, eluyéndose con éter de petróleo y éter etílico. Parte del material fue eluido con éter de petróleo, caracterizándose por tanto como hidrocarburos; y otra con éter etílico. Esta última fracción se comportó como la mancha n.º 6. El extracto acuoso se acidificó con ClH hasta Rojo Congo y se extrajo con éter etílico, obteniéndose los ácidos grasos de la fracción ésteres de esteroles.

Se consideró pues que las manchas 1 y 2 estaban constituidas por hidrocarburos, colesterol esterificado y otros lípidos de polaridad similar (alcoholes poliisoprenoides).

Los valores medios alcanzados por todos estos componentes de la fracción lípidos neutros queda recogida en la Tabla III. El contenido en Q-10 se recoge en la Tabla IV.

TABLA III

Valores medios alcanzados por los componentes de la fracción lípidos neutros en el músculo «Longissimus dorsi» de corderos sanos y distróficos, expresados en términos de mgs/100 grs de músculo, porcentaje del extracto lipídico total y porcentaje del total de lípidos neutros

Componentes	mgs/100 grs de músculo		% del extracto lipídico		% del total de lípidos neutros	
	Sanos	Distróficos	Sanos	Distróficos	Sanos	Distróficos
Glicéridos parciales	27,23 ±9,28	48,45 ±27,53	1,31 ±0,39	1,78 ±1,18	3,01 ±0,86	2,99 ±1,92
Colesterol libre	75,38 ±11,40	83,64 ±24,10	3,67 ±0,41	2,94 ±0,67	8,52 ±1,48	4,78 ±1,48
Acidos grasos libres	54,60 ±27,30	81,00 ±23,25	2,68 ±2,24	2,94 ±1,04	6,23 ±3,46	4,86 ±2,47
Ubiquinona y acompañantes	41,15 ±17,90	43,63 ±31,20	2,09 ±1,13	1,50 ±0,72	5,08 ±3,61	2,40 ±1,37
Triglicéridos	523,54 ±168,57	1.380,40 ±529,40	25,31 ±4,35	47,07 ±11,06	57,67 ±7,07	73,58 ±7,68
Ester de colesterol	28,56 ±5,95	30,20 ±7,57	1,38 ±0,22	2,10 ±0,38	3,12 ±0,55	1,85 ±0,88
Hidrocarburos y similares	153,32 ±76,80	168,29 ±77,20	7,33 ±3,32	5,83 ±2,05	16,24 ±5,78	9,93 ±4,15

TABLA IV
Niveles de ubiquinona (Q-10) en el músculo «Longissimus dorsi» de corderos sanos y distróficos, expresado en términos de ugrs/gr de músculo

	Controles	Distróficos
1	31,0	A 41,0
2	30,6	B 34,7
3	39,2	C 44,9
4	35,0	D 47,8
5	43,2	E 30,6
6	44,0	F 48,9
		G 29,2
		H 35,2
—X	37,6	39,7
D. T.	5,9	7,7
«t»		0,5785

Identificación de los fosfolípidos

Muestras de los lípidos polares eluidos con metanol en la columna de ácido silílico-celita se cromatógrafiaron en láminas finas de sílica gel, se desarrollaron unidimensionalmente según se describe en material y métodos, junto con patrones de lisofosfatidilcolina, cardiolipina, fosfatidilcolina, esfingomielina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol y fosfatidiletanolamina (Fig. II).

Para la caracterización de los distintos componentes se tuvo en cuenta, además de los Rfs similares a los de los compuestos patrón, la respuesta frente a los siguientes reactivos: azul de molibdeno, iodo-ioduro potásico y ninhidrina.

Todos los compuestos se mostraron positivos frente al reactivo de azul de molibdeno; las manchas n.º 3 y 4 dieron positivo frente al reactivo de ninhidrina (se identificaron como fosfatidiletanolamina y una mezcla de fosfatidilinositol y fosfatidilserina); las manchas n.º 5, 6 y 7 reaccionaron frente al reactivo de iodo-ioduro potásico (se caracterizaron como fosfatidilcolina, esfingomielina y lisofosfatidilcolina). La mancha n.º 2 no fue identificada y la n.º 1 se caracterizó como cardiolipina.

Los valores alcanzados por estos componentes queda recogido en la Tabla V.

Composición en ácidos grasos

El contenido en ácidos grasos de las distintas fracciones que los contienen queda recogido en las Tablas VI (lípidos neutros de los corderos sanos), VII (lípidos neutros corderos distróficos), VIII (fosfolípidos corderos sanos) y IX (fosfolípidos corderos distróficos).

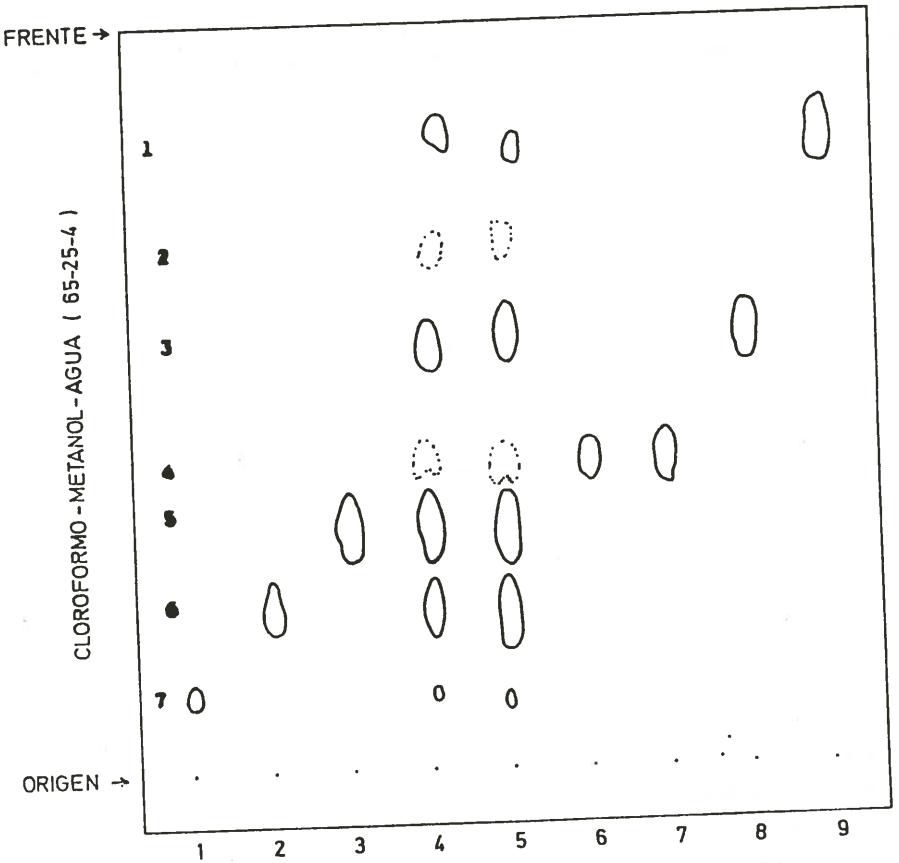


Fig. 2.-Cromatografía en lámina fina de sílica gel «G» de dos muestras de fosfolípidos (4 y 5) del músculo *Longissimus dorsi* de corderos sanos y enfermos, respectivamente, junto con patrones de: lisofosfatidilcolina (1), esfingomielina (2), fosfatidilinositol (3), fosfatidiletanolamina (8) y cardiolipina (9), empleando como fase móvil una mezcla de cloroformo - metanol - agua (65-25-4).

DISCUSION

Contenido lipídico total

El contenido lipídico intramuscular de los óvidos varía con la edad y el plano nutritivo.

Los animales analizados a lo largo del trabajo ofrecían un contenido lipídico intramuscular en el *Longissimus dorsi* que concuerda plenamente con las cifras dadas por LAWRIE (1966) para corderos de 9 semanas de edad y mantenidos en un plano nutritivo alto.

TABLA V
Valores alcanzados por los componentes de la fracción fosfolípidos en el músculo «*Longissimus dorsi*» de corderos sanos y distróficos, expresados en porcentaje del fósforo lipídico total

Componentes	Sanos	Distróficos	Sign.
LFC	4,71 ±2,95	3,78 ±2,79	P>0,05
ES	7,36 ±3,87 ±6,73	11,16 ±4,81 ±6,71	P>0,05
FC	32,61 ±6,73	27,86 ±6,71	P>0,05
FI + FS	6,83 ±3,16	8,40 ±4,13	P>0,05
FE	31,93 ±8,37	31,27 ±9,30	P>0,05
N. I.	5,05 ±3,75	6,55 ±2,90	P>0,05
C	11,43 ±3,77	10,61 ±3,58	P>0,05

LFC: Lisofosfatidilcolina; ES: Esfingomielina; FC: Fosfatidilcolina; FI + FS: Fosfatidilinositol + Fosfatidilserina; FE: Fosfatidiletanolamina; N. I.: No identificada y C: Cardiolipina.

Los corderos afectos de miodistrofia nutricional enzoótica ofrecen una elevación del contenido lipídico que representa un incremento del 38 % sobre la tasa media de los animales sanos. Esta observación concuerda con las hechas por otros autores en animales afectos de distrofias hereditarias (JORDAN y col. 1964; PETERSON y col. 1968; PETERSON y LYLIBLADE, 1969; CHIO y col. 1972) así como en la miodistrofia nutricional del conejo (GOETTSCH y BROWN, 1932), del cobayo (GOETTSCH y PAPPENHEIMER, 1931) y de los ratones (PAPPENHEIMER, 1948). En los rumiantes las únicas observaciones previas de esta naturaleza publicadas se refieren a terneros con miodistrofia nutricional enzoótica (POUKKA, 1966) o experimental (BLAXTER y WOOD, 1952); el incremento en el contenido lipídico que estos autores observan es del mismo orden que el hallado en este trabajo.

La Tabla II pone de manifiesto que el incremento del contenido lipídico intramuscular tiene lugar a expensas exclusivamente de los lípidos neutros que alcanzan cifras prácticamente dos veces más altas en los animales enfermos (1.897 mgs/100 grs de músculo) que en los sanos (961 mgs/100 grs de músculo).

Los datos de POUKKA (1966) para terneros afectos de miodistrofia nutricional enzoótica permiten calcular la multiplicación por un factor próximo a 2 de los lípidos neutros, pero observa también un incremento en la tasa de fosfolí-

TABLA VI

Ácidos grasos de los distintos componentes de la fracción lípidos neutros del músculo «Longissimus dorsi» de corderos sanos (valores expresados en % sobre el total de ácidos grasos)

Ácidos grasos	G. P.	A. G. L.	L. A. Q.	Tr.	E. E.
C-10	1,29	0,53	1,92	0,49	0,67
C-11	—	—	—	—	0,24
C-12	1,79	2,41	1,86	1,65	0,93
C-13	—	—	—	0,30	0,82
C-14	6,68	4,37	6,73	6,13	2,85
C-14:1	2,18	0,44	1,72	0,45	1,21
C-15	2,70	1,93	1,23	0,86	0,99
C-15:1	2,58	1,13	5,98	0,37	1,37
C-16	23,21	20,73	18,50	24,82	15,15
C-16:1	7,88	6,21	6,09	3,13	6,82
C-17	0,69	0,96	0,85	0,93	1,43
C-17:1	2,51	1,12	1,28	0,96	1,23
N. I.	—	—	—	—	0,21
C-18	13,19	12,60	7,42	12,81	14,36
C-18:1	31,71	35,22	22,28	41,74	33,95
C-18:2	3,99	3,99	1,88	2,69	1,66
C-19	—	—	—	—	0,99
C-20	—	—	5,59	—	—
C-18:3	0,66	4,49	1,37	2,15	3,00
C-20:1	—	0,47	—	—	0,59
C-20:2	—	0,18	3,99	—	1,21
C-20:3	—	0,22	—	—	—
C-22	—	0,14	—	—	—
C-20:4	—	2,55	8,18	—	1,66
N. I.	—	0,76	0,91	—	0,88
N. I.	—	0,36	5,03	—	0,72
C-24	—	—	—	—	7,19
C-22:5	—	0,97	—	—	—
C-22:6	—	0,53	—	—	—

G. P. = Glicéridos parciales; A. G. L. = Ácidos grasos libres; L. A. Q. = Lipidos acompañantes de la ubiquinona; Tr. = Triglicéridos; E. E. = Esteres de esterolos.

lipidos del orden del 17 %. En los corderos por nosotros examinados se evidencia, en cambio, una gran constancia de la tasa global de fosfolípidos.

Los glicolípidos se mantienen también en valores medios idénticos en los animales sanos y enfermos; se observa, sin embargo, enormes oscilaciones entre los animales pertenecientes a un mismo grupo, que es probable que se deban a insuficiencias en el método de determinación usado (pesada).

Lípidos neutros

Como era de esperar, el conjunto de los lípidos neutros se halla dominado por los triglicéridos, cuya tasa se halla considerablemente incrementada en los

TABLA VII

Ácidos de los distintos componentes de la fracción lípidos neutros del músculo «Longissimus dorsi» de corderos enfermos (valores expresados en % sobre el total de ácidos grasos)

Ácidos grasos	G. P.	A. G. L.	L. A. Q.	Tr.	E. E.
C-10	2,02	0,56	2,40	0,65	0,50
C-11	—	—	—	—	0,43
C-12	2,74	1,19	3,13	1,53	0,70
C-13	—	—	—	0,18	0,81
C-14	9,26	2,81	9,06	9,28	2,90
C-14:1	1,09	0,30	1,40	0,42	1,21
C-15:0	1,27	0,94	0,75	0,64	0,86
C-15:1	3,47	0,64	2,80	0,28	1,41
C-16	26,43	15,61	20,13	24,53	15,79
C-16:1	6,78	3,86	5,64	2,53	7,07
C-17	1,32	0,78	0,68	0,67	0,99
C-17:1	3,96	0,79	1,82	0,75	0,78
N. I.	—	—	—	—	2,71
C-18	10,14	12,27	7,06	12,93	11,08
C-18:1	28,79	38,72	23,95	41,64	27,14
C-18:2	2,60	6,71	2,33	2,30	2,77
C-19	—	—	—	—	3,24
C-20	—	—	—	6,54	—
C-18:3	0,72	3,49	3,06	1,43	4,70
C-20:1	—	0,54	—	—	0,58
C-20:2	—	0,14	1,48	—	3,41
C-20:3	—	0,33	—	—	—
C-22	—	0,26	—	—	—
C-20:4	—	6,41	7,06	—	3,86
N. I.	—	0,79	—	—	0,96
N. I.	—	0,34	2,25	—	2,87
C-24	—	—	—	—	6,94
C-22:5	—	1,61	—	—	—
C-22:6	—	0,36	—	—	—

G. P. = Glicéridos parciales; A. G. L. = Ácidos grasos libres; L. A. Q. = Lipidos acompañantes de la ubiquinona; Tr. = Triglicéridos; E. E. = Esteres de esterolos.

animales distróficos, multiplicándose el porcentaje que del peso total del músculo representan por un factor de 2,6. JORDAN y col. (1964) han especulado sobre la posibilidad de que el incremento en las tasas de triglicéridos experimentado por los músculos distróficos sea consecuencia del metabolismo de las proteínas musculares, que conduciría a la producción de grandes cantidades de Acetil-CoA que se almacenarían en forma de triglicéridos. Sin embargo en los animales afectos de distrofias hereditarias el acúmulo de triglicéridos parece ser consecuencia de un incremento en la capacidad de síntesis de ácidos grasos (CHIO y col. 1972) y un descenso de la velocidad de oxidación de los mismos (STRICKLAND y col. 1970). Es muy probable que a la misma causa obedezca el acúmulo de triglicéridos en las miostrofias nutricionales ya que

TABLA VIII

Ácidos grasos de los distintos componentes de la fracción fosfolípidos del músculo «Longissimus dorsi» de corderos sanos (valores expresados en % sobre el total de ácidos grasos)

Ácidos grasos	LFC	ES	FC	FI + FS	FE	N. I.	C
C-12	—	1,60	—	—	—	—	—
C-14	1,95	1,53	0,45	0,48	—	0,52	0,48
C-14:1	1,17	—	—	—	—	—	—
C-15	1,06	0,64	0,25	—	—	—	—
C-15:1	0,60	0,69	0,16	—	—	—	—
C-16	18,17	24,06	18,32	7,11	2,45	3,35	1,96
C-16:1	4,87	2,40	0,96	1,58	0,81	1,93	2,28
C-17	1,98	1,17	0,78	1,18	0,58	—	—
C-17:1	2,18	0,94	0,71	0,81	0,67	1,46	1,37
C-18	14,39	15,17	14,76	23,54	17,88	10,93	3,81
C-18:1	31,73	36,60	35,38	27,84	25,83	24,60	20,90
C-18:2	12,53	9,26	10,70	7,95	8,82	27,56	51,24
C-18:3	2,08	1,83	2,89	1,68	1,45	6,74	8,39
C-20:1	—	0,37	0,24	0,56	—	—	—
C-20:3	—	0,98	1,79	4,24	3,63	0,49	0,68
C-22	—	0,17	1,06	1,05	0,93	0,74	0,67
C-20:4	8,06	2,94	6,32	12,54	22,08	13,26	5,07
N. I.	—	0,59	2,18	3,10	4,42	2,53	0,77
N. I.	—	0,40	0,21	1,55	2,75	0,49	0,59
C-22:5	—	0,77	2,35	3,52	6,28	3,75	1,81
C-22:6	—	0,47	0,81	1,43	3,76	1,22	0,82

LFC = Lisofatidilcolina; ES = Esfingomielina; FI + FS = Fosfatidilinositol + Fosfatidilserina; FC = Fosfatidilcolina; FE = Fosfatidiletanolamina; N. I. = No identificado; C = Cardiolipina.

como ha sido demostrado en un trabajo previo (ZUMALACÁRREGUI y BURGOS, 1976) está deprimida su capacidad de oxidación de los ácidos grasos.

En la composición lipídica de los músculos sanos siguen en importancia cuantitativa a los triglicéridos el conjunto formado por los hidrocarburos y otros lípidos de polaridad similar; en términos de mgs/100 grs de músculo su tasa no se modifica significativamente en los animales enfermos; sí, en cambio, en términos del % que representan respecto del total de lípidos neutros dado el notable incremento experimentado por los triglicéridos.

El contenido en colesterol total del músculo *Longissimus dorsi* alcanza un valor medio de 103,95 mgs/100 grs en los animales sanos, en los animales distróficos la media sube a 113,84 mgs/100 grs, pero las diferencias no son estadísticamente significativas.

Es de notar el hecho de que estos resultados contrastan con las observaciones de JORDAN y col. (1964) que ofrecen incrementos muy notables (multiplicación por un factor de 15) en pollos con mioidistrofia hereditaria; POUKKA (1966) encuentra también multiplicado por un factor próximo a 2 la tasa de colesterol en los terneros afectos de mioidistrofia nutricional enzoótica.

TABLA IX

Ácidos grasos de los distintos componentes de la fracción fosfolípidos del músculo «Longissimus dorsi» de corderos enfermos (valores expresados en % sobre el total de ácidos grasos)

Ácidos grasos	LFC	ES	FC	FI + FS	FE	N. I.	C
C-12	—	0,57	—	—	—	—	—
C-14	1,76	1,43	0,43	0,34	—	0,46	0,31
C-14:1	0,49	—	—	—	—	—	—
C-15	0,88	0,54	0,27	—	—	—	—
C-15:1	0,59	0,17	0,11	—	—	—	—
C-16	21,01	23,85	17,64	6,31	3,05	3,95	2,23
C-16:1	3,34	1,33	1,01	0,76	0,51	1,64	1,64
C-17	0,68	0,91	0,78	0,59	0,36	—	—
C-17:1	3,20	0,81	0,58	0,69	0,64	0,82	1,20
C-18	16,49	18,58	17,64	27,81	15,06	10,23	3,71
C-18:1	28,24	32,42	28,42	23,63	19,66	23,29	20,29
C-18:2	12,05	9,52	10,26	7,85	6,84	35,54	55,66
C-18:3	1,54	1,00	1,64	0,83	1,03	2,84	5,05
C-20:1	—	0,35	0,37	0,78	0,56	—	—
C-20:3	—	1,39	1,80	2,64	1,45	0,92	0,51
C-22	—	0,43	0,99	2,64	0,65	0,57	0,63
C-20:4	8,55	5,63	11,66	17,23	28,84	14,35	5,75
N. I.	—	0,61	1,76	1,30	3,49	1,79	0,48
N. I.	—	0,66	0,48	1,53	2,86	0,55	0,41
C-22:5	—	0,98	2,91	4,10	10,17	2,38	1,40
C-22:6	—	0,58	1,26	2,02	4,74	1,01	0,79

LFC = Lisofatidilcolina; ES = Esfingomielina; FC = Fosfatidilcolina; FI + FS = Fosfatidilinositol Fosfatidilserina; FE = Fosfatidiletanolamina; N. I. = No identificado; C = Cardiolipina.

Todos los autores parecen estar de acuerdo en que la mayor parte del colesterol intramuscular de los mamíferos se halla en estado libre; difieren notablemente, sin embargo, en cuanto al porcentaje que la forma esterificada representa con respecto al colesterol total, así TU y col. (1967) cifran la tasa de colesterol esterificado en un valor medio del 6 % tanto para los bóvidos como para los cerdos; POUKKA (1966) obtiene cifras del orden del 33 % en estado esterificado en los adductores de los terneros.

En los corderos sometidos al estudio que describimos en este trabajo el colesterol esterificado representa algo más de 1/4 del colesterol total (el 27 % en los animales sanos y el 26 % en los distróficos). No se observan pueas diferencias significativas entre los animales sanos y distróficos, ni en la tasa de colesterol total por 100 grs de músculo, ni en el porcentaje del mismo que se encuentra esterificado.

La tasa media de ácidos grasos libres es en términos de mgs/100 grs de músculo de 54,60 en los animales sanos y de 81,00 en los distróficos y en términos de porcentaje del extracto lipídico total de 2,68 % y 2,94 % care-

ciendo de significación estadística las diferencias observadas debido a la gran variación individual.

No hemos encontrado en la bibliografía consultada datos con respecto al contenido en ácidos grasos libres en el músculo de los óvidos; sí se poseen datos, en cambio, en cuanto al contenido en los músculos de los bóvidos en los que se han encontrado cifras tan dispares para el *Longissimus dorsi* como el 0,1-0,2 % del contenido lipídico total (HOOD y ALLEN, 1971) y el 4,7-7,5 % expresado en los mismos términos (THRALL y CRAMER, 1971).

Los glicéridos parciales suponen en los corderos sanos una tasa media de 27,23 mgs/100 grs de músculo, aumentando esta tasa media hasta 48,45 mgs/100 grs en los animales enfermos, pero las diferencias carecen de significación estadística dada la gran variabilidad individual en ambos grupos de animales.

La tasa media de ubiquinona (expresada en términos de Q-10) es de 37,6 microgramos/gr de músculo en los animales sanos, cifra ligeramente inferior a la que para los músculos esqueléticos de los corderos de 3 días de edad dan LESTER y CRANE (1959) y del mismo orden que POUKKA (1968b) obtiene en los adductores de los terneros de 1-4 semanas de edad. Al igual que observa este último autor en los terneros con mioldistrofia nutricional enzoótica, tampoco en los corderos se observa diferencia alguna en la tasa de Q-10 entre los músculos de los animales sanos y enfermos.

Es interesante observar en este sentido que la influencia del selenio y la vitamina E de la dieta en el contenido en ubiquinona de los tejidos animales, ha sido objeto de numerosos estudios (véase la revisión de HEMMING y PENNOCK, 1965); los resultados obtenidos por los distintos grupos de investigadores son, sin embargo, enormemente contradictorios.

Fosfolípidos

Nuestros resultados, en lo que a los animales control se refiere, coinciden en general con los obtenidos por DAWSON (1960) en los músculos esqueléticos de los óvidos y por BODY y col. (1966) en los fetos ovinos a término.

Las diferencias más apreciables entre los datos recogidos en este trabajo y los de los autores citados se refieren: 1) a la fosfatidilcolina que en los corderos sanos examinados en este trabajo representa el 32,61 % del total de los fosfolípidos, en el de DAWSON el 45,6 % y en el de BODY y col. el 44,6 % y 2) a la cardiolipina; BODY sólo observa trazas y DAWSON cita porcentajes del 5,6 % con respecto a los fosfolípidos totales y en los corderos a que este trabajo se refiere alcanza el 11,4 %.

La composición de la fracción fosfolípidos es en los músculos de los animales enfermos prácticamente idéntica a la de los sanos. Se observa, sin embargo, en los animales distróficos un descenso de la fosfatidilcolina y un

aumento de la esfingomielina, pero ambas variaciones carecen de significación estadística. En este sentido nuestras observaciones están de acuerdo con las de POUKKA (1968a) en los terneros con mioldistrofia enzoótica.

Una de las teorías corrientes sobre las distrofias musculares atribuye la causa primaria de las mismas a la alteración de las membranas musculares (WEINSTOCK, 1966; SRIVASTAVA, 1968); dadas las funciones que en ellas desempeñan los fosfolípidos, podrían tener cierta importancia los cambios en su contenido total y en la composición de la citada fracción de los lípidos polares. Las alteraciones en la composición de la fracción son, sin embargo, tan pequeñas en las distrofias hereditarias y nutricionales que es dudoso que puedan traducirse ni siquiera en un daño a la membrana. Debe, sin embargo, considerarse el hecho de que todos los estudios citados, al igual que el objeto de este trabajo, investigan el contenido en fosfolípidos totales del músculo globalmente considerado y no el de las estructuras membranosas individualizadas, en alguna de las cuales pueden darse cambios más profundos que los detectados en estos estudios globales.

Composición en ácidos grasos

Corderos normales

a) Lípidos neutros.

La composición en ácidos grasos de todos los tipos de lípidos neutros es muy similar. En los corderos sanos domina en esta fracción el C-18:1 (41,64 % en los triglicéridos, 35,22 % en los ácidos grasos libres, 33,95 % en los ésteres de colesterol, 31,71 % en los glicéridos parciales y 22,28 % en los lípidos acompañantes de la ubiquinona). Sigue a éste en importancia cuantitativa el C-16:0 que alcanza las tasas más altas en los triglicéridos (24,82 %), en los glicéridos parciales (23,21 %) y en los ácidos grasos libres (20,73 %) y las más bajas en los lípidos acompañantes de la ubiquinona (18,50 %) y en los ésteres de colesterol (15,15 %).

El C-18:0 es el tercero de los ácidos grasos en importancia cuantitativa en todos los componentes de esta fracción (14,36 % en los ésteres de colesterol, 13,19 % en los glicéridos parciales, 12,81 % en los triglicéridos, 12,69 % en los ácidos grasos libres y 7,42 % en los lípidos acompañantes de la ubiquinona).

Ofrecen valores cuantitativamente importantes también en todos los componentes individuales de los lípidos neutros el C-14:0 que alcanza tasas oscilantes entre el 4 y 6 % y el C-18:2 cuyos niveles se mueven en los diversos componentes en el rango 2-4 %.

b) Fosfolípidos.

Teniendo en cuenta el ácido graso predominante pueden dividirse en dos grupos; en uno de ellos (lisofosfatidilcolina, esfingomielina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y fosfatidilinositol + fosfatidilserina) predomina el C-18:1 y en el otro (cardiolipina y componente no identificado) el C-18:2.

Conviene destacar además las siguientes observaciones derivadas de nuestro estudio:

1) La abundancia del C-20:4 en la fosfatidiletanolamina, que alcanza tasas del orden del 22 % y que está de acuerdo con los resultados obtenidos en los músculos de los terneros (POUKKA y OKSANEN, 1972) y en los de los pollos (HAY y col. 1973).

2) El contraste entre la riqueza en el C-16:0 de la lisofosfatidilcolina, esfingomielina y fosfatidilcolina en los que alcanza tasas entre el 18-24 % y que en la cardiolipina y fosfatidiletanolamina es tan escaso que sólo representa alrededor de un 2 % del total de ácidos grasos.

3) La gran pobreza del C-18:0 en la cardiolipina en la que su abundancia no pasa de un 3 % frente a la tasa alcanzada en los demás fosfolípidos (entre un 10-23 %).

4) En la lisofosfatidilcolina no se detectan ácidos grasos de tiempo de retención superior al C-18:3, excepto el C-20:4.

Corderos distróficos

Cualitativamente, ni en los lípidos neutros ni en los fosfolípidos se observa diferencia alguna en su composición en ácidos grasos con respecto a los mismos componentes de los animales sanos.

Se dan, sin embargo, diferencias cuantitativas estadísticamente significativas en los siguientes aspectos:

1) En los glicéridos parciales aumenta el C-14:0 (de un 6,68 % en los animales sanos a un 9,32 % en los enfermos).

2) En los ácidos grasos libres se observa en los animales distróficos un descenso del C-12:0, C-14:0, C-14:1, C-15:0, C-16:1 y C-17:1 compensados por un incremento del C-18:2 y del C-20:4.

3) En la fosfatidilcolina aumenta el porcentaje del C-18:0 y C-20:4; descienden, en cambio, el C-18:1 y el C-18:3.

4) En la esfingomielina aumenta el C-20:4 que pasa de representar un 2,94 % a constituir un 5,63 % del total de sus ácidos grasos componentes.

5) En la fosfatidiletanolamina desciende el C-18:0, el C-20:3 y el C-18:1; aumentan, en cambio, el C-20:4 y el C-22:5.

6) En la cardiolipina desciende el porcentaje representado por el C-18:3 y aumenta el C-18:2.

No se observa pues el descenso del C-18:2 que señalan numerosos autores (ERWIN y col. 1961; PENDELL y col. 1969; DEMILLE y col. 1972) para la grasa total y para los fosfolípidos de corderos con miodistrofias inducidas; de hecho el C-18:2 es uno de los ácidos grasos que aumenta significativamente en algunas fracciones (ácidos grasos libres y cardiolipina). En este aspecto nuestros resultados concuerdan bastante bien con los datos publicados por POUKKA (1966, 1968a) para terneros con miodistrofias enzoóticas. También concuerdan con

los de POUKKA (1968a) en lo que se refiere al incremento en algunas fracciones (fosfatidicolina y fosfatidiletanolamina) del C-20:4 y el descenso del C-18:1 (en la fosfatidicolina).

El aspecto más concordante, en lo que a la composición en ácidos grasos se refiere, entre los diversos estudios sobre las miodistrofias nutricionales enzoóticas e inducidas, incluido el objeto de este trabajo, parece ser el incremento del C-20:4 que tiene lugar en los ácidos grasos libres, fosfatidicolina, fosfatidiletanolamina y esfingomielina.

RESUMEN

Se ha estudiado en el músculo *Longissimus dorsi* de corderos de raza «Churra» (4-6 semanas de edad) normales y afectos de la miodistrofia nutricional enzoótica, la composición lipídica y el contenido en ácidos grasos de las distintas fracciones que los contienen.

El contenido lipídico del *Longissimus dorsi* de los animales distróficos es un 38 % superior al de los animales sanos, debido principalmente al incremento experimentado por los triglicéridos. La composición en ácidos grasos varía cuantitativamente entre uno y otro tipo de músculo, siendo de destacar en los animales distróficos el incremento sufrido por el C-20:4 en distintas fracciones.

RÉSUMÉ

On a étudié dans le muscle *Longissimus dorsi* d'agneaux de race Churra (âges de 4 à 6 semaines) normaux et affectés par de la miodynamie nutritive enzootique, la composition lipidique et la teneur en acides gras des différentes fractions qui les contiennent.

La teneur en lipides du *Longissimus dorsi* des animaux dystrophiques est d'un 38% supérieure à celle des animaux sains, dû principalement à l'augmentation expérimentée par les triglycérides. La composition en acides gras varie quantitativement d'un type à autre du muscle, et chez les animaux dystrophiques l'augmentation subie par le C-20:4 dans des différentes fractions est remarquable.

SUMMARY

The lipid composition and the fatty acids of the pertinent fractions have been determined in the *Longissimus dorsi* of «Churra» lambs (4-6 weeks old) healthy and suffering from enzootic nutritional muscular dystrophy.

The lipid content of the dystrophic muscles is 38% higher than that in healthy animals. This is mainly due to the increase occurred in triglycerides. The main quantitative variation in fatty acids composition is a remarkable increase in C-20:4 in different lipids fractions of the dystrophic muscles.

BIBLIOGRAFIA

- BLAXTER, K. L. y WOOD, W. A. (1952). *Brit. J. Nutr.* **6**, 144.
- BODY, D. R., SHORLAND, F. B. y GASS, J. P. (1966). *Biochim. Biophys. Acta* **125**, 207.
- BOILLIGER, H. R. (1962). En «*Dünnschicht Chromatographie*», ed. Stahl, E. Springer, Heidelberg, p. 241.
- CHIEN, P. S., TORIBARA, T. Y. y WARNER, H. (1956).-*Anal. Chem.* **28**, 1756.
- CHIO, L. F., PETERSON, D. W. y KRATZER, F. H. (1972).-*Can. J. Biochem.* **50**, 1267.
- CRANF, F. L. (1959). *Plant Physiol.* **34**, 128.
- DAWSON, R. M. C. (1960). *Biochem. J.* **75**, 45.
- DEMILLE, F., MILLER, R. B. y BUCHANAN-SMITH, J. G. (1972).-*Can. J. Anim. Sci.* **52**, 351.
- DITTMER, J. C. y LESTER, R. L. (1964). *J. Lipid Res.* **5**, 126.
- ERWIN, E. S., STERNER, W., GORDON, R. S., MACHLIN, L. J. y TUREEN, L. L. (1961). *J. Nutr.* **75**, 45.
- FOLCH, J., LEES, M. y STANLEY, G. H. S. (1957). *J. Biol. Chem.* **226**, 497.
- GOETTSCH, M. y BROWN, F. F. (1932).-*J. Biol. Chem.* **97**, 549.
- GOETTSCH, M. y PAPPENHEIMER, A. M. (1931).-*J. Exp. Med.* **54**, 145.
- HAY, J. O., CURRIE, R. V. y WOLFE, F. H. (1973). *J. Food Sci.* **38**, 696.
- HEMMING, F. W. y PLENOCK, J. F. (1965). En «*Biochemistry of Quinones*», ed. Morton R. A. Academic Press, London, p. 287.
- HOOD, R. L. y ALLEN, E. (1971). *J. Food Sci.* **36**, 786.
- JORDAN, J. P., KRATZER, F. H. y ZARGHAMI, N. S. (1964). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **16**, 243.
- LAWRIE, R. A. (1966).-En «*Meat Science*», ed. Pergamon Press Ltd. Oxford, p. 121.
- LESTER, R. L. y CRANE, F. L. (1959).-*J. Biol. Chem.* **234**, 2169.
- MOORE, D. R. y BAUMAN, C. A. (1952).-*J. Biol. Chem.* **195**, 615.
- PAPPENHEIMER, A. M. (1948).-En «*On certain Aspects of Vitamin E Deficiency*». C. C. Thomas, Springfield, Illinois.
- PENDELL, H. W., MUTH, O. H., OLFIELD, J. E. y WESWIG, P. H. (1969). *J. Anim. Sci.* **29**, 94.
- PETERSON, D. W., HAMILTON, W. H. y LYLIBLADE, A. L. (1968).-*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **127**, 300.
- PETERSON, D. W. y LYLIBLADE, A. L. (1969). *J. Food. Sci.* **34**, 142.
- POUKKA, R. (1966).-*Brit. J. Nutr.* **20**, 245.
- POUKKA, R. (1968a).-*Brit. J. Nutr.* **22**, 429.
- POUKKA, R. (1968b).-*Brit. J. Nutr.* **22**, 423.
- POUKKA, R. y OKSANEN, A. (1972). *Brit. J. Nutr.* **27**, 327.
- SCHLENK, H. y CELLMAN, J. L. (1960). *Anal. Chem.* **25**, 1650.
- SHAW, N. (1968).-*Biochim. Biophys. Acta* **164**, 435.
- SHEHATA, A. J., DE MAN, J. M. y ALEXANDER, J. C. (1970).-*Can. Inst. Food Technol. J.* **3**, 85.
- SRIVASTAVA, V., (1968).-*Can. J. Biochem.* **46**, 35.
- STRICKLAND, K. P., LIN, C. H. y HUDSON, A. J. (1970).-En «*Muscle disease*» eds. Walton, J. N., Canal, N. y Scarlati, G. Excerpta Medica, Amsterdam, p. 273.
- THRALL, B. E. y CRAMER, D. A. (1971).-*J. Food. Sci.* **36**, 194.
- TU, C., POWRIE, W. D. y FENNEMA, O. (1967). *J. Food Sci.* **32**, 30.
- WAGNER, J. A., TITUS, D. S. y SCHADE, J. E. (1963). *Food Technol.* **17**, 730.
- WEINSTOCK, I. M. (1966).-*N. Y. Acad. Sci. Anim.* **138**, 199.
- Z MALCARREGUI, J. y BURGOS, J. (1976).-*Anales de la Facultad de Veterinaria de León*. (En prensa).