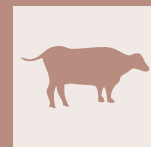


# Determinazione degli acidi grassi e della vitamina E nel muscolo di vacche Piemontesi affette da miopatia lipomatosa



SILVIA MIOLETTI<sup>1\*</sup>, SARA PANSERI<sup>2\*</sup>, ELENA BIASIBETTI<sup>3</sup>,  
LUCA CHIESA<sup>2</sup>, MARIA TERESA CAPUCCHIO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino

<sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare-VESPA, Via Celoria 10, 20133 Milano

<sup>3</sup> Histopathology Department CIBA, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Torino, Italy

\* Uguale contributo

## RIASSUNTO

La miopatia lipomatosa è una malattia muscolare degenerativa segnalata nei bovini piemontesi, caratterizzata dalla sostituzione di cellule muscolari con tessuto adiposo. La patogenesi di questa miopatia è ancora poco compresa, molto probabilmente la sua origine è multifattoriale, con fattori genetici e nutrizionali che contribuiscono al suo sviluppo. In questo lavoro gli Autori hanno eseguito analisi istologiche e biochimiche su campioni prelevati da 4 tipi muscolari diversi (*vasto laterale*, *bicipite brachiale*, *cutaneo del collo* e *cutaneo del tronco*) provenienti da vacche piemontesi, 7 sane e 7 affette da miopatia lipomatosa, di età compresa tra i 14 e i 19 mesi. Gli animali sono stati allevati nelle stesse condizioni ambientali e nutriti con la stessa razione energetica, senza integrazione di vitamina E. Nessuno di loro aveva mostrato segni clinici di malattia muscolare e tutti erano in un eccellente stato nutrizionale. I muscoli colpiti sono stati identificati per la presenza di infiltrazioni di tessuto adiposo mediante esame macroscopico. L'analisi istologica dei muscoli affetti da miopatia lipomatosa ha confermato la presenza di infiltrazioni di tessuto adiposo di varia distribuzione e gravità. Sono state osservate anche aree di necrosi e presenza di cellule infiammatorie non suppurative. Le analisi biochimiche del tessuto patologico hanno mostrato un aumento del contenuto di acidi grassi, in particolare degli acidi grassi monoinsaturi (MUFA), e una marcata riduzione del contenuto di vitamina E rispetto al tessuto sano. Poiché l'attività della stearoil-CoA desaturasi (SCD), un enzima che limita la velocità nella biosintesi dei MUFA, è stata recentemente dimostrata essere un punto di controllo critico nella regolazione del metabolismo lipidico nei muscoli scheletrici, e gli indici di desaturazione per gli acidi grassi 18:0 e 16:0 sono considerati indicatori indiretti dell'attività della SCD, gli Autori hanno calcolato gli indici matematici per l'attività della C16  $\Delta(9)$ -desaturasi e per l'attività della C18  $\Delta(9)$ -desaturasi negli estratti lipidici totali. Rispetto ai controlli, nei campioni patologici questi indici di desaturazione sono risultati superiori in tre dei quattro tipi muscolari esaminati (*cutaneo del collo*, *vasto laterale* e *bicipite brachiale*). Attualmente tuttavia non è ancora possibile prevedere in che misura questi cambiamenti possano influenzare le caratteristiche organolettiche, tecnologiche e nutrizionali delle carni di bovini con miopatia lipomatosa. Ulteriori studi sono necessari per capire come queste modificazioni possano influire sulla qualità delle carni e sulla patogenesi di questa miopatia.

## PAROLE CHIAVE

Miopatia lipomatosa; bestiame; acidi grassi; vitamina E.

## INTRODUZIONE

La miopatia lipomatosa è una malattia muscolare degenerativa caratterizzata dalla sostituzione del tessuto muscolare con tessuto adiposo sotto forma di grandi venature biancastre o marmorizzate.

Questa patologia è stata segnalata raramente in pecore, cavalli e cani ma più frequentemente in suini e in bovini<sup>1</sup>. In base ai risultati di uno studio precedente<sup>2</sup> si evidenzia come particolarmente colpiti appaiano i muscoli di bovini di razza piemontese, nei quali il quadro di miopatia lipomatosa appare caratterizzato da alterata dimensione delle fibre, zone di necrosi, infiltrazione di cellule mononucleate, aumento

del tessuto connettivo e sostituzione del tessuto muscolare con tessuto adiposo. Dal punto di vista chimico le fibre muscolari con miopatia mostrano un'altissima percentuale di grasso<sup>2</sup> rispetto ai livelli piuttosto bassi osservati solitamente nei muscoli sani di bovini piemontesi dove, a causa del basso contenuto lipidico, il livello dei trigliceridi risulta notevolmente ridotto e il rapporto tra acidi grassi polinsaturi e acidi grassi saturi appare aumentato<sup>3</sup>. Fino ad oggi non ci sono molte ricerche che abbiano approfondito l'eziologia della miopatia lipomatosa, anche se sono state fatte diverse ipotesi in merito<sup>4</sup>. Molto probabilmente l'origine di questa patologia è multifattoriale, con fattori genetici e nutrizionali che potrebbero contribuire alla sua insorgenza.

In questo studio gli Autori hanno voluto eseguire analisi biochimiche quantitative e qualitative sugli acidi grassi e sul contenuto in vitamina E in alcuni muscoli di bovini piemontesi affetti da questa miopatia, per valutare una possibile correlazione tra queste molecole e l'eziologia di tale patologia.

Corresponding Author:

Silvia Mioletti (silvia.mioletti@unito.it).

## MATERIALI E METODI

Sono stati analizzati campioni di muscolo raccolti da vacche piemontesi provenienti da diversi allevamenti della regione Piemonte, in particolare da 7 animali affetti da miopatia lipomatosa e da 7 animali sani. Le vacche erano simili per età (da 14 a 19 mesi) e allevate nelle stesse condizioni ambientali, con la stessa razione energetica e senza supplemento di vitamina E. Le analisi sono state eseguite su campioni dei 4 tipi muscolari colpiti da miopatia lipomatosa (*vasto laterale*, *bicipite brachiale*, *cutaneo del tronco* e *cutaneo del collo*), e sui corrispondenti muscoli degli animali sani come controllo. I muscoli patologici sono stati selezionati per la presenza di infiltrazioni di tessuto adiposo mediante esame macroscopico. È interessante sottolineare che nessuno degli animali aveva mostrato segni clinici di miopatia e tutti erano in ottimo stato di nutrizione. I campioni di muscolo, raccolti in un macello della regione Piemonte, sono stati immediatamente inviati al laboratorio del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Torino, dove sono stati divisi in due frammenti: uno per la valutazione istologica e l'altro per le analisi biochimiche. I campioni sono stati tagliati, congelati in isopentano e conservati a -80°C fino alle analisi. Per l'esame istologico e istochimico sono state preparate sezioni di 10 µm al criostato, colorate con ematossilina ed eosina (H&E), olio rosso e Sudan III<sup>2</sup>.

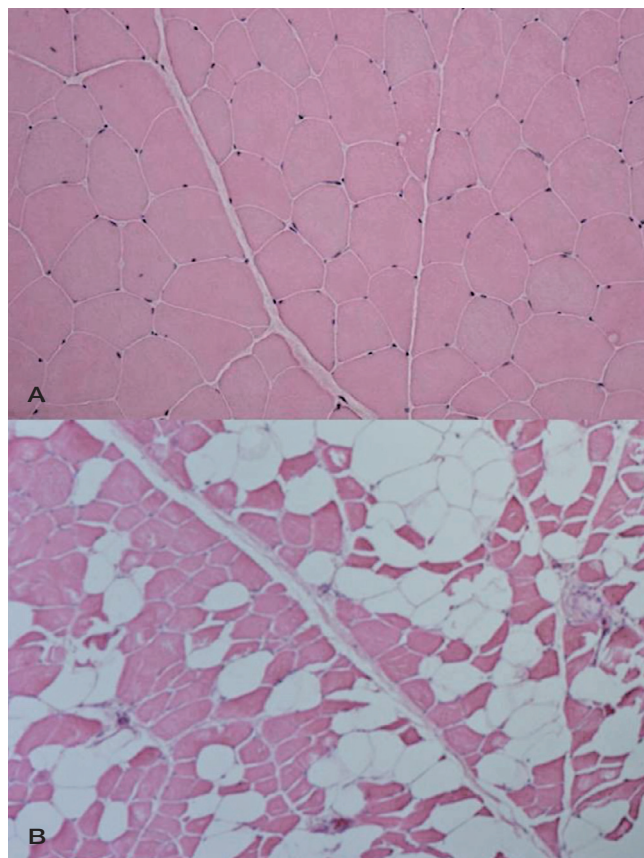
Le analisi biochimiche sono state eseguite presso il Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica dell'Università di Milano. L'estrazione del grasso totale e la purificazione sono state compiute secondo la metodica di Bligh e Dyer<sup>5</sup>. La preparazione dei metilesteri per le analisi degli acidi grassi è stata ottenuta secondo il metodo di Christie<sup>6</sup>. La separazione degli acidi grassi e la loro identificazione sono state effettuate con un Thermo gascromatografo (Modello Trace GC Ultra, Palo Alto, CA, USA) dotato di un rivelatore FID. Gli acidi grassi sono stati identificati rispetto a standard esterni noti; le aree dei picchi risultanti sono state quantificate mediante standard interni. Tutte le analisi sono state condotte in doppio ed i risultati sono stati espressi come percentuale dei singoli acidi grassi su 100 g di acidi grassi totali. Poiché la stearyl-CoA desaturasi (SCD), un enzima limitante nella biosintesi degli acidi grassi monoinsaturi, è stata dimostrata essere un punto di controllo critico nella regolazione del metabolismo lipidico anche a livello muscolare<sup>7,8,9,10,11</sup>, sono stati calcolati gli indici di desaturazione per gli acidi grassi C18:0 e C16:0 mediante gli indici matematici  $100 [(C16:1 / C16:1 + C16:0)]$  per l'attività della C16 Δ (9) - desaturasi e  $100 [(C18:1 / C18:1 + C18:0)]$  per l'attività della C18 Δ (9) - desaturasi nell'estratto lipidico totale. Il contenuto di vitamina E è stato determinato secondo il metodo descritto da Buttriss e Diplock<sup>12</sup>. I risultati sono stati espressi come µg di vitamina E g<sup>-1</sup> di muscolo. I valori medi riguardanti il contenuto degli acidi grassi e di vitamina E sono stati analizzati statisticamente con il test ANOVA ad una via, utilizzando come post test il test di Student-Newman-Keuls. La significatività è stata accettata con P<0.05. Tutte le analisi sono state eseguite mediante il sistema SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). I dati sono stati riportati come media ± deviazione standard (DS).

## RISULTATI

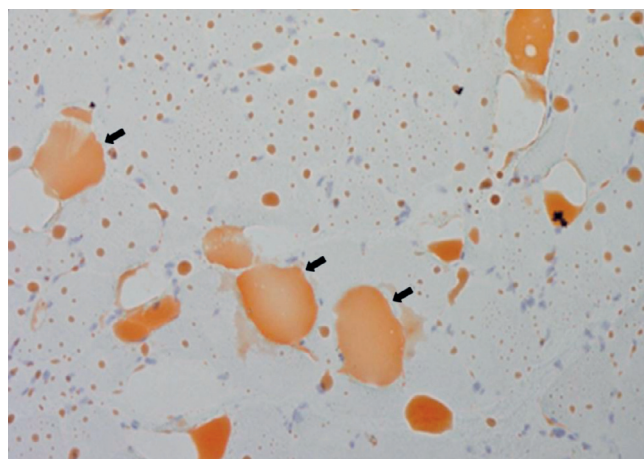
Tutti gli animali hanno mostrato un eccellente stato di nutrizione. L'esame macroscopico ha rivelato diversi gradi di

infiltrazione di tessuto adiposo nei muscoli patologici, con marcate differenze nella distribuzione e nella gravità della deposizione tra i campioni.

L'analisi istologica con H&E ha rivelato una infiltrazione di tessuto adiposo diversificata riguardo a distribuzione e gravità, variazioni nella dimensione delle fibre muscolari e aumento del numero di fibre con nuclei in posizione centrale, suggerendo fenomeni di degenerazione-rigenerazione muscolare (Fig. 1). Sono state anche osservate necrosi e cellule infiammatorie non suppurative. Inoltre si sono osservate proliferazione del tessuto connettivo e alterazioni miopatiche non specifiche. Le colorazioni istochimiche (Sudan III e olio rosso) hanno confermato questo quadro (Fig. 2).



**Figura 1** - Bovino, muscolo vasto laterale. (A) Muscolo sano. (B) Muscolo con infiltrazioni di tessuto adiposo tra le miofibre. Colorazione H&E. 100x.



**Figura 2** - Bovino, muscolo vasto laterale. Quadro variabile di infiltrazione adiposa. Colorazione Sudan III. 100x.

**Tabella 1** - Proporzione percentuale degli acidi grassi nei muscoli sani e patologici (g/100 g di acidi grassi totali).

Acidi grassi (g/100 g acidi grassi totali)	Vasto laterale			Bicipite brachiale			Cutaneo del collo			Cutaneo del tronco		
	Controlli ± SD	Patologici ± SD	P	Controlli ± SD	Patologici ± SD	P	Controlli ± SD	Patologici ± SD	P	Controlli ± SD	Patologici ± SD	P
C10:0	0.05±0.00	0.05±0.01	ns	0.08±0.03	0.04±0.00	ns	0.06±0.01	0.05±0.01	ns	0.04±0.03	0.05±0.00	ns
C12:0	0.09±0.01	0.08±0.02	ns	0.07±0.08	0.05±0.01	ns	0.11±0.01	0.11±0.00	ns	0.09±0.05	0.11±0.01	ns
C14:0	2.23±0.78	3.20±0.33	ns	4.25±0.73	2.13±0.16	<0.05	3.55±0.32	3.68±0.03	ns	3.47±0.77	3.96±0.27	ns
C14:1	0.65±0.15	2.29±0.27	<0.05	0.59±0.21	0.42±0.06	ns	1.48±0.61	2.52±0.00	ns	1.56±0.35	1.19±0.04	ns
C15:0	0.29±0.01	0.39±0.04	<0.05	0.51±0.12	0.26±0.05	<0.05	0.38±0.01	0.41±0.00	<0.05	0.34±0.04	0.40±0.02	ns
C16:0	24.47±1.20	29.61±1.72	<0.05	31.20±1.73	22.41±0.05	ns	28.35±0.99	25.76±0.02	<0.05	28.91±1.20	28.41±0.56	ns
C16:1	4.85±1.15	8.44±0.42	<0.05	4.17±1.37	4.85±0.11	<0.05	7.94±1.32	8.36±0.11	ns	8.15±1.88	4.68±0.19	<0.05
C17:0	0.68±0.07	0.64±0.04	ns	0.86±0.16	0.78±0.08	ns	0.70±0.09	0.87±0.00	ns	0.64±0.06	0.91±0.01	<0.05
C17:1	0.90±0.04	0.87±0.04	ns	0.44±0.07	0.88±0.06	ns	0.79±0.07	0.98±0.05	<0.05	0.67±0.06	0.60±0.00	ns
C18:0	11.31±0.43	6.90±0.12	<0.05	18.38±5.24	12.15±0.48	ns	10.17±1.46	7.69±0.19	ns	9.42±1.67	13.74±0.01	<0.05
C18:1 t9	0.43±0.31	0.95±0.04	<0.05	1.17±0.33	2.64±2.04	<0.05	0.82±0.34	1.81±0.61	<0.05	0.43±0.32	1.44±0.06	<0.05
C18:1 c9	35.76±0.65	43.85±0.17	<0.05	32.61±2.37	50.04±0.62	<0.05	37.12±1.10	42.09±0.21	<0.05	40.33±2.21	39.61±1.02	ns
C18:2 n-6 c	11.71±1.80	3.19±0.01	<0.05	4.22±0.58	3.92±0.00	ns	5.68±0.61	4.21±0.20	<0.05	4.18±0.87	3.47±0.04	ns
C20:0	0.05±0.01	nd	<0.05	0.12±0.05	nd	<0.05	0.03±0.04	nd	ns	0.04±0.03	nd	ns
C18:3 n-6	0.15±0.02	nd	<0.05	0.05±0.01	nd	<0.05	0.06±0.01	0.02±0.00	<0.05	0.04±0.03	0.04±0.00	ns
C20:1	0.11±0.03	0.16±0.02	<0.05	0.08±0.01	0.17±0.18	ns	0.07±0.01	0.06±0.01	ns	0.14±0.04	0.16±0.01	ns
C18:3 n-3	0.35±0.03	0.29±0.08	<0.05	0.29±0.13	0.36±0.01	ns	0.24±0.02	0.27±0.01	ns	0.18±0.12	0.34±0.01	ns
C21:0	0.12±0.11	0.29±0.05	<0.05	0.22±0.02	0.33±0.01	<0.05	0.26±0.03	0.65±0.04	<0.05	0.20±0.08	0.27±0.01	ns
C20:2	0.12±0.02	0.07±0.02	<0.05	0.06±0.01	0.10±0.00	<0.05	0.07±0.01	0.06±0.01	ns	0.07±0.04	0.07±0.01	ns
C20:3 n-6	0.73±0.52	0.10±0.01	ns	0.19±0.05	0.10±0.01	<0.05	0.40±0.08	0.13±0.01	<0.05	0.26±0.08	0.18±0.01	ns
C22:2	0.05±0.02	nd	<0.05	0.02±0.02	0.01±0.01	ns	0.02±0.01	0.01±0.01	ns	0.02±0.01	0.02±0.00	ns
<i>Partial sums</i>												
Σ SFA	43.98±1.68	41.41±1.87	ns	56.14±2.97	38.34±0.15	<0.05	45.26±1.88	39.50±0.21	<0.05	43.96±1.67	48.19±0.79	<0.05
Σ MUFA	42.91±0.74	56.55±0.51	<0.05	39.04±3.69	58.99±2.69	<0.05	48.22±2.34	55.81±0.45	<0.05	51.29±2.06	47.67±0.74	<0.05
Σ PUFA	13.11±2.42	3.64±0.13	<0.05	4.82±0.78	4.48±0.01	ns	6.46±0.55	4.69±0.23	<0.05	4.75±1.00	4.11±0.06	ns
Σ n-3 PUFA	0.35±0.03	0.29±0.08	ns	0.29±0.13	0.36±0.01	<0.05	0.24±0.02	0.27±0.01	ns	0.18±0.12	0.34±0.01	ns
Σ n-6 PUFA	12.59±0.54	3.29±0.01	ns	4.45±0.06	4.02±0.01	<0.05	6.13±0.07	4.36±0.01	ns	4.49±0.11	3.68±0.01	ns

MUFA: acidi grassi monoinsaturi; PUFA: acidi grassi poliinsaturi; SFA: acidi grassi saturi.  
nd = non determinato; P = valori di significatività; ns = non significativo.

Un aumento di acidi grassi monoinsaturi totali (Σ MUFA) è stato osservato in tre dei quattro campioni patologici (*cutaneo del collo*, *vasto laterale* e *bicipite brachiale*). In particolare per quanto riguarda i singoli acidi grassi, si è notato un aumento

**Tabella 2** - Indici di desaturazione per i campioni sani e patologici.

		Campioni di controllo	Campioni patologici
Δ <sup>9</sup> -desaturasi (C16)	<i>Cutaneo del collo</i>	21,88	24,49
	<i>Vasto laterale</i>	16,53	22,18
	<i>Bicipite brachiale</i>	11,78	18,62
	<i>Cutaneo del tronco</i>	21,98	14,34
Δ <sup>9</sup> -desaturasi (C18)	<i>Cutaneo del collo</i>	78,50	84,56
	<i>Vasto laterale</i>	75,98	85,97
	<i>Bicipite brachiale</i>	63,95	80,46
	<i>Cutaneo del tronco</i>	81,07	74,25

Δ<sup>9</sup>-desaturasi (C16): indice dell'attività della C16 desaturasi = [C16:1/(C16:0 + C16:1)]100.  
Δ<sup>9</sup>-desaturasi (C18): indice dell'attività della C18 desaturasi = [C18:1c9/(C18:0 + C18:1c9)]100.

su tre dei campioni per l'acido oleico (C18:1 c9) e su tutti e quattro per l'acido elaidinico (C18:1 t9) (Tabella 1). Rispetto ai controlli, gli indici di desaturazione per gli acidi grassi C16:0 e C18:0 sono risultati superiori in tre dei quattro campioni (*cutaneo del collo*, *vasto laterale* e *bicipite brachiale*) (Tabella 2). Inoltre, il contenuto di vitamina E è risultato essere significativamente inferiore nei campioni patologici (Tabella 3).

**Tabella 3** - Contenuto in Vitamina E nel tessuto muscolare sano e patologico (μg g<sup>-1</sup> muscolo).

Vitamina E*	Campioni di controllo		Campioni patologici		P
	media	DS	media	DS	
<i>Cutaneo del collo</i>	2.01	0.38	1.67	0.08	<0.05
<i>Vasto laterale</i>	1.86	0.16	0.75	0.14	<0.01
<i>Cutaneo del tronco</i>	1.67	0.13	0.87	0.05	<0.05
<i>Bicipite brachiale</i>	2.44	0.23	2.17	0.21	<0.05

P = valori di significatività - \* = μg g<sup>-1</sup> muscolo.

## DISCUSSIONE

Il presente studio ha analizzato il contenuto di acidi grassi e di vitamina E in muscoli di bovini affetti da miopatia lipomatosa. Nei tessuti patologici si è osservato un aumento di acidi grassi insaturi, in particolare di acido oleico e acido elaidinico. Questo risultato è coerente con un aumento della quantità di acidi grassi insaturi muscolari dimostrato in studi di spettroscopia mediante risonanza magnetica in vivo (1H MR) in pazienti con malattia neuromuscolare (ad esempio, la distrofia muscolare di Duchenne, la distrofia miotonica, la malattia di Charcot-Marie Tooth, la poliomielite, la spina bifida)<sup>13</sup>.

Una possibile spiegazione di questo risultato potrebbe essere l'aumento dell'espressione/attività della SCD, enzima che catalizza la conversione di acidi grassi saturi in acidi grassi monoinsaturi, e la cui aumentata espressione/attività è stata correlata a patologie quali cancro, diabete, malattie cardiovascolari, insulino-resistenza, obesità e altre malattie metaboliche<sup>8</sup>. Uno studio su campioni di muscolo di bovino delle razze Aberdeen Angus e Charolais ha anche riportato una correlazione tra alterazioni della SCD e rapporto acidi grassi monoinsaturi/acidi grassi saturi<sup>14</sup>. L'attività della SCD sembrerebbe essere inoltre condizionata da fattori genetici: il polimorfismo del gene che codifica per la SCD ha infatti mostrato di influenzare il contenuto in acidi grassi monoinsaturi nelle razze da carne<sup>15</sup>. Anche la composizione del grasso nella razza giapponese Wagyu è notevolmente diversa da quella di altre razze bovine. La razza Wagyu pare fisiologicamente ben adattata a produrre e accumulare più acido oleico nel tessuto adiposo e questo aumento dipende proprio da un aumento dell'attività della SCD<sup>9,16</sup>. È da sottolineare che la Wagyu e le razze bovine europee non differiscono per quanto riguarda il meccanismo di accrescimento del tessuto adiposo post-natale, che è la combinazione dell'aumento del numero di adipociti (iperplasia) e della loro dimensione (ipertrofia)<sup>17</sup>.

Shirouchi<sup>18</sup> ha osservato inoltre che i livelli di differenziazione del tessuto adiposo correlati alla perilipina 1, una proteina importante nel metabolismo dei lipidi, e all'mRNA specifico per questa proteina, erano più alti nella razza Nera Giapponese rispetto alla razza Holstein, e Motoayama<sup>16</sup> ha riportato, in un suo lavoro, l'abbondanza di grasso intramuscolare nella stessa razza giapponese.

Alla luce di tutto ciò gli Autori ritengono che una valutazione dell'espressione/attività della SCD, dei livelli di perilipina 1 e del suo mRNA in muscoli affetti da miopatia lipomatosa possa essere meritevole di un futuro approfondimento, anche se ad oggi non è possibile prevedere in che misura le variazioni della composizione in acidi grassi possano pregiudicare le caratteristiche organolettiche, tecnologiche e nutrizionali della carne dei bovini affetti da questa patologia. La carne di razza piemontese rimane comunque ampiamente riconosciuta per le sue qualità nutrizionali, il basso contenuto lipidico e la sua distribuzione degli acidi grassi<sup>3</sup>.

La vitamina E agisce come antiossidante e protegge le membrane cellulari contro alte concentrazioni di perossidi; le sue proprietà antiossidanti suggeriscono un ruolo nella prevenzione dello stress ossidativo, anche se le sue funzioni sono molteplici e non ancora pienamente comprese<sup>19</sup>. Si sa anche che la carenza di vitamina E è una delle cause di insorgenza della miopatia nutrizionale o "malattia del muscolo bianco"

in un'ampia varietà di specie, tra cui vitelli e agnelli, maiali, puledri, tacchini, polli, anatroccoli, e vari altri animali selvatici<sup>20,21</sup>, caratterizzata da lesioni degenerative delle fibre muscolari cardiache e scheletriche, a volte con presenza di una vasta mineralizzazione<sup>19</sup>. Si è osservato che nei muscoli di animali affetti da miopatia nutrizionale il contenuto di vitamina E, selenio e glutatione perossidasi sono diminuiti, e la concentrazione di perossidi è aumentata<sup>21</sup>. Le lesioni sono di solito bilaterali e simmetriche e coinvolgono i muscoli della spalla, della gamba e posteriori, anche se possono essere colpiti altri muscoli, tra cui diaframma, lingua, esofago, e muscoli intercostali<sup>22</sup>. Nel presente studio l'esame morfologico dei campioni con miopatia lipomatosa ha rivelato alterazioni degenerative del muscolo scheletrico ma con assenza di calcificazioni. Si è osservata una deposizione variabile di tessuto adiposo nello stroma muscolare, ma non erano visibili lesioni tipiche della miopatia nutrizionale, come aree chiare irregolari a margini indistinti, a volte accompagnate da emorragie.

Inoltre la miopatia lipomatosa e la miopatia nutrizionale sono clinicamente distinte: la prima non manifesta segni clinici, mentre la seconda è spesso caratterizzata nel bovino da rigidità o dispnea, passo strascicato e cadute nei casi più gravi<sup>22</sup>. Nonostante queste differenze tra le due miopatie, è possibile comunque ipotizzare che anche la diminuzione dei livelli di vitamina E nel tessuto con miopatia lipomatosa possa essere uno degli elementi scatenanti - anche se non il principale fattore eziologico - dell'insorgenza di questa malattia.

## CONCLUSIONI

La miopatia lipomatosa è caratterizzata dalla infiltrazione adiposa del tessuto muscolare. Le analisi biochimiche hanno rivelato variazioni significative nel contenuto in acidi grassi e vitamina E in campioni muscolari prelevati da vacche piemontesi con questa patologia rispetto a tessuti sani. Attualmente non è possibile prevedere in che misura tali cambiamenti chimici e fisici possono influenzare le caratteristiche organolettiche, tecnologiche e nutrizionali dei muscoli interessati. Ulteriori studi sono necessari per capire le cause di questo disturbo metabolico ma sembra essere probabile un'eziologia multifattoriale.

## RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro è stato finanziato dalla Fondazione Cassa di Risparmio di Cuneo - CN, Italia (Bando Ricerca Scientifica 2011).

### ■ Determination of fatty acids and vitamin E content in muscle from Piedmontese cattle with lipomatous myopathy

## SUMMARY

Lipomatous myopathy is a degenerative muscle disease reported in Piedmontese cattle, characterized by the substitution of muscle cells with adipose tissue. The pathogenesis of this myopathy is still poorly understood, most likely its ori-

gin is multifactorial, with genetic and nutritional factors contributing to its development. In this work Authors performed histological and biochemical analyzes on samples taken from four different muscle types (*vastus lateralis*, *biceps brachii*, *cutaneous trunci* and *cutaneous colli*) from Piedmontese cattle, seven healthy animals and seven with lipomatous myopathy, aged fourteen to nineteen months. The animals were reared under the same environmental condition and fed at the same energy and protein level without vitamin E supplementation. None of the animals showed clinical signs of muscular disease and all were in an excellent state of nutrition. The seven affected animals were identified by macroscopic examination for the presence of infiltration of adipose tissue in multiple or individual muscles. Histological analysis of the tissue with lipomatous myopathy revealed infiltration of adipose tissue of various distribution and severity. Necrosis and non suppurative inflammatory cells were also seen. Furthermore, proliferation of connective tissue and non-specific myopathic changes, were present too. Biochemical analyzes of pathological tissue showed an increase in fatty acid content, in particular for monounsaturated fatty acids (MUFA), and a marked decrease in vitamin E content compared to healthy tissue. As the activity of the stearoyl-CoA desaturase (SCD), a rate-limiting enzyme in the biosynthesis of monounsaturated fatty acids, has recently been shown to be a critical control point in the regulation of skeletal muscle lipid metabolism, and the desaturation indices for 18:0 and 16:0 fatty acids are considered indirect indicators of SCD, Authors calculated the mathematical indices for  $\Delta$  (9)-desaturase C16 activity and for  $\Delta$  (9)-desaturase C18 activity in total lipid extracts. As compared with the controls, in pathological samples the desaturation index was significantly higher. Currently, it is not possible to predict to what extent these changes can influence the organoleptic, technological, and nutritional characteristics of meat from cattle with lipomatous myopathy. Further study is needed to understand how these changes relate to meat quality and the pathogenesis of lipomatous myopathy.

## KEY WORDS

Lipomatous myopathy; cattle; fatty acids; vitamin E.

## Bibliografia

- Marcato S., Rosmini R. and Bazzo R. (2002). Sistema locomotore: muscoli. In: Patologia sistematica veterinaria (ed. S Marcato), pp. 1095-1158. Edagricole, Bologna, Italy.
- Biasibetti E., Amedeo S., Brugiapaglia A., Destefanis G., Di Stasio L., Valenza F., Capucchio M.T. (2012). Lipomatous muscular 'dystrophy' of Piedmontese cattle. *Animal*, 6: 1839-1847.
- Barge M.T., Brugiapaglia A., Destefanis G., Mazzocco P. (1993). The influence of muscle type, ethnic group, muscular hypertrophy on the composition of beef meat. Conference at the 39th International Congress of Meat Science and Technology, Calgary, Alberta, Canada, File S5PO2.WP.
- Biasibetti E., Capucchio M.T., Castagnaro M., Guarda F. (2013). Muscoli scheletrici, in: Trattato di anatomia patologica veterinaria, ed. by Guarda F., Mandelli G., Biolatti B., Scanziani E., UTET, Torino, p. 104.
- Bligh E.G., Dyer W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*, 37: 911-917.
- Christie W.W. (2003). Preparation of derivatives of fatty acid. In: Lipid analysis isolation, separation, identification and structural analysis of lipids. Ed. by Christie WW. The Oily Press, Bridgwater.
- Dobrzyn P., Pyrkowska A., Jazurek M., Szymanski K., Langfort J., Dobrzyn A. Endurance training-induced accumulation of muscle triglycerides is coupled to upregulation of stearoyl-CoA desaturase 1 (2010). *J Appl Physiol* 2010, 109:1653-1661.
- Poudyal H., Brown L. (2011). Stearoyl-CoA desaturase: a vital checkpoint in the development and progression of obesity. *Endoc Metab Immune Disord Drug Targets*, 1: 217-231.
- Smith S.B., Lunt D.K., Chung K.Y., Choi C.B., Tume R.K., Zembayashi M. Adiposity, fatty acid composition, and delta-9 desaturase activity during growth in beef cattle. (2006). *Anim Sci J*, 77: 478-486.
- Stamatikos A.D., Paton C.M. Role of stearoyl-CoA desaturase-1 in skeletal muscle function and metabolism. (2013) *Am J Physiol Endocrinol Metab*, Oct 1; 305(7):E767-75.
- Machado Neto O.R., Chizzotti M.L., Ramos E.M., Oliveira D.M., Lanna D.P., Ribeiro J.S., Lopes L.S., Descalzo A.M., Amorim T.R., Ladeira M.M. (2015). Fatty acid profile and meat quality of young bulls fed ground soybean or ground cottonseed and vitamin E. *Animal*, 9: 362-72.
- Buttriss J.L., Diplock A.T. (1984). High-performance liquid chromatography methods for vitamin E in tissues. *Methods Enzymol*, 105: 131-138.
- Bárány M., Venkatasubramanian P.N., Mok E., Siegel I.M., Abraham E., Wycliffe N.D., Mafee M.F. (1989). Quantitative and qualitative fat analysis in human leg muscle of neuromuscular diseases by 1H MR spectroscopy in vivo. *Magn Reson Med*, 10: 210-226.
- Sexton A.K., Krehbiel C.R., Dillwith J.W., Madden R.D., McMurphy C.P., Lalman D.L., Mateescu R.G. (2012) Effect of muscle type, sire breed, and time of weaning on fatty acid composition of finishing steers. *J Anim. Sci*, 90:616-625.
- Brugiapaglia A., Lussiana C., Destefanis G. (2014). Fatty acid profile and cholesterol content of beef at retail of Piemontese, Limousin and Friesian breeds. *Meat Sci*, 96: 568-973.
- Motoyama M., Sasaki K., Watanabe A. (2016). Wagyu and the factors contributing to its beef quality: A Japanese industry overview. *Meat Sci*, 120:10-18.
- Gotoh T., Albrecht E., Teuscher F., Kawabata K., Sakashita K., Iwamoto H., Wegner J. (2009). Differences in muscle and fat accretion in Japanese Black and European cattle. *Meat Sci*, 82: 300-308.
- Shirouchi B., Albrecht E., Nuernberg G., Maak S., Olavanh S., Nakamura Y., Sato M., Gotoh T., Nuernberg K. (2014). Fatty acid profiles and adipogenic gene expression of various fat depots in Japanese Black and Holstein steers. *Meat Sci*, 96: 157-164.
- Rederstorff M., Krol A., Lescure A. (2006). Understanding the importance of selenium and selenoproteins in muscle function. *Cell Mol Life Sci*, 63: 52-59.
- Finno C.J., Valberg S.J., Wünschmann A., Murphy M.J. (2006). Seasonal pasture myopathy in horses in the midwestern United States: 14 cases (1998-2005). *J Am Vet Med Assoc*, 229: 1134-1141.
- Kennedy S., Rice D.A. (1992). Histopathologic and ultrastructural myocardial alterations in calves deficient in vitamin E and selenium and fed polyunsaturated fatty acids. *Vet Path*, 29: 129-138.
- Van Vleet J.F., Valentine B.A. (2007). Muscle and tendon. In: Pathology of Domestic Animals, Ed. Jubb, Kennedy and Palmer, M. Grant Maxie, p. 1, Edinburgh.