

# AMINOACIDOS LIBRES DEL ENCEFALO Y DEL HIGADO DE DIVERSOS GENEROS Y ESPECIES DE MURCIELAGOS

Por  
B. G. ORTEGA C.  
y  
G. MASSIEU H.  
del Instituto de Biología.

Existen datos acerca del contenido en aminoácidos libres de los tejidos de diversos animales, especialmente del encéfalo y del hígado de la rata y el ratón (2, 3, 5, 8, 9). En ambos órganos dichos aminoácidos intervienen activamente en el metabolismo y participan en un intenso intercambio (6) con el ciclo de Krebs. Es conocido el hecho de que varias condiciones, entre ellas el ayuno y la calidad y cantidad de la proteína de la dieta, pueden afectar la composición del patrón de aminoácidos libres de los tejidos (10, 13).

En la literatura científica no se encontraron datos relativos al contenido de aminoácidos libres del encéfalo y del hígado de murciélagos, por lo que se decidió realizar una investigación en este sentido. En el caso de estos animales había el interés adicional de que entre los diversos géneros y especies de estos animales existen diferencias muy notables en sus hábitos alimenticios [Villa (11)], especialmente en lo referente al valor biológico de las proteínas. En teoría, este hecho puede reflejarse en diferencias muy notables en los niveles de algunos aminoácidos libres de sus tejidos, principalmente del hígado.

## MATERIAL Y METODOS

Los murciélagos estudiados fueron los siguientes:  
Insectívoros: *Macrotus mexicanus*  
*Myotis velifer velifer*  
*Chilonycteris rubiginosa mexicana*

Frugívoro:	<i>Artibeus jamaicensis jamaicensis</i>
Melífago:	<i>Leptonycteris nivalis nivalis</i>
Hematófago:	<i>Desmodus rotundus</i> .

Estos animales se colectaron, respectivamente, en las localidades siguientes:

Insectívoros:	<i>Macrotus mexicanus</i> — Cueva del Coyote, 10 Km. S.S.E. Ixtapan de la Sal, México
	<i>Myotis velifer velifer</i> — Cueva del Salitre, 3 Km. S. Tetecalita, Mor.
	<i>Chilonycteris rubiginosa mexicana</i> — Cueva del Salitre, 3 Km. S. Tetecalita, Mor.
Frugívoro:	<i>Artibeus jamaicensis jamaicensis</i> — Cueva del Salitre, 3 Km. S. Tetecalita, Mor.
Melífago:	<i>Leptonycteris nivalis nivalis</i> — Cueva "D. C. B.", 7.5 Km. O. Jamay 1500 m. Jal.
Hematófago:	<i>Desmodus rotundus</i> — Cueva de la Fábrica, 5 Km. O. Coquimatlán, Col.

Su captura se realizó en su medio natural, trasladándose de inmediato a jaulas para poder ser transportados. El viaje de traslado al laboratorio duró por lo general 3 horas, al llegar se les suministró alimento, dependiente al grupo a que pertenecieran; así a los frugívoros y melífagos se les dio agua y frutas blandas (generalmente plátano); a los insectívoros se les proporcionó agua solamente, a causa de que en cautiverio tan corto (16 horas) no aprenden a capturar sus presas; por último al grupo de los hematófagos se les suministró sangre defibrinada (no toman agua). Todos los géneros y especies utilizados en este trabajo son estrictos en sus hábitos alimenticios.

Los murciélagos fueron sacrificados a las 16 horas después de su captura. Se disecaron en el menor tiempo posible el encéfalo y el hígado y se congelaron de inmediato en aire líquido manteniéndolos en inmersión durante un minuto, según la técnica utilizada por Dawson (3). El mismo procedimiento se siguió con un grupo de ratones testigo. Los ratones pertenecían a la colonia local del Instituto de Biología y se alimentaron en algunos casos *ad libitum* previamente con una dieta comercial (Purina Laboratory Chow) hasta el momento del sacrificio y en otros casos fueron sometidos a un ayuno de 18 a 20 horas.

Los tejidos congelados fueron pesados y homogeneizados en homogeneizadores Potter-Elvehjem, con 8 ml. de alcohol etílico al 80%, y centrifugados y lavados 2 veces, obteniéndose de esta manera el extracto libre de proteínas; dichos extractos se trataron con cloroformo, procedimiento por medio del cual se eliminan los lípidos y se obtienen finalmente los extractos acuosos de los aminoácidos (1, 5). Dichos extractos fueron concentrados convenientemente y utilizados para la separación cromatográfica de los aminoácidos, en un sistema bidimensional descendente en papel filtro Whatmann N° 1 (28 x 23 cm.) El primer solvente fue fenol al 80%. El fenol químicamente puro se redistiló a presión reducida junto con polvo de zinc según la recomendación de Williams y Kirby (12); el segundo solvente fue butanol-ácido acético-agua (4:1:1).

Los cromatogramas obtenidos se revelaron con ninhidrina al 0.05% (en butanol saturado con agua) y la estimación de algunos aminoácidos se realizó siguiendo la técnica de Naftalin (7), con ligeras modificaciones. Las lecturas se hicieron en espectrofotómetro Beckman B a 570 m $\mu$ . Con cada lote de muestras fue introducida una curva patrón de ácido glutámico contra la que se leyeron todos los aminoácidos estudiados. Posteriormente las cifras se corrigieron por medio de factores, obtenidos de la comparación previa de la curva tipo de ácido glutámico con las de los aminoácidos respectivos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los datos obtenidos se resumen en las tablas 1 y 2 en donde se comparan las cifras de los aminoácidos estudiados (expresados en mg. por 100 g. de tejido húmedo) en el encéfalo y el hígado del ratón y en los mismos tejidos de los distintos tipos de murciélagos. Se anota en cada caso el error "standard" de la media.

La comparación de la concentración de aminoácidos libres del encéfalo de los murciélagos entre sí y con la del ratón, revela algunas diferencias. El contenido en ácido aspártico del encéfalo de los murciélagos tendió a ser menor que en el encéfalo de ratón excepto en el caso de *Macrotus mexicanus*. El de ácido glutámico fue significativamente menor en uno de los grupos de *Leptonycteris*. Debido al corto número de animales que se analizaron, no se puede por el momento derivar una conclusión definitiva sobre este hecho. El nivel de alanina encefálica fue notablemente mayor en *Desmodus* que

en el ratón y en el resto de los murciélagos. Las concentraciones de todos los aminoácidos analizados en el encéfalo de *Chilonycteris* fueron bajas al comparar con los propios murciélagos y el ratón, pero en este caso los datos deben considerarse solamente de carácter explorativo, ya que se dispuso de muy pocos ejemplares.

En lo general y a pesar de las diferencias señaladas, se puede decir que los patrones de aminoácidos libres del encéfalo de los animales estudiados fueron bastante parecidos.

Al comparar la concentración de algunos aminoácidos libres del hígado de murciélagos y de ratón (Tabla 2) se aprecian diferencias notables. En los primeros el ácido glutámico tendió a ser mayor especialmente en *Myotis velifer v.* Solamente en *Chilonycteris*, un grupo de *Leptonycteris* y *Desmodus*, no se notó esa diferencia. Con la excepción de *Artibeus*, la concentración de glutamina en el hígado de los murciélagos fue significativamente menor que en el hígado del ratón en ayuno. El nivel de la alanina hepática fue menor en *Macrotus* y *Myotis* y mayor en *Chilonycteris* y *Artibeus* que el encontrado en hígado de ratón. La concentración de serina más glicina hepática fue más elevada en *Macrotus* y *Myotis* que en el hígado de ratón.

Si los niveles de aminoácidos libres de un determinado tejido son el reflejo del equilibrio en cada caso entre las reacciones catabólicas y las anabólicas, como opinan algunos autores, por ejemplo Florkin (4), se puede considerar entonces que las diferencias señaladas entre la composición en aminoácidos libres de los tejidos analizados de los murciélagos y los del ratón, son a su vez un índice de que el metabolismo de estas sustancias difieren en los dos tipos de animales. Queda entonces por indagar en qué aspectos radica dicha distinción, ya que las rutas metabólicas de los aminoácidos considerados son varias y se involucran en ellas diversos sistemas enzimáticos, cuya actividad sería necesario investigar.

Aparentemente no es posible establecer ninguna correlación entre el tipo de proteína dietaria que ingieren los diferentes grupos de murciélagos y la composición en aminoácidos libres de los tejidos que se estudiaron.

TABLA 1

COMPARACION DEL CONTENIDO EN ALGUNOS AMINOACIDOS LIBRES DEL ENCEFALO DE RATON DE RATON CON EL DE DIFERENTES GRUPOS DE MURCIELAGOS

Grupo	mg. del aminoácido por 100 g. de tejido húmedo				
	Acido aspártico	Acido glutámico	Glutamina	Acido $\gamma$ -amino-butírico	Alanina
Insectívoros:					
<i>Macrotus mexicanus</i>	54.5 $\pm$ 1.50 (10)	196.5 $\pm$ 13.5 (10)	63.2 $\pm$ 2.09 (10)	22.3 $\pm$ 2.06 (10)	1.48 $\pm$ 0.24 (8)
<i>Myotis velifer velifer</i>	40.6 $\pm$ 2.42 (12)	202.2 $\pm$ 10.1 (12)	71.3 $\pm$ 3.16 (12)	28.8 $\pm$ 2.05 (11)	2.39 $\pm$ 0.45 (10)
<i>Chilonycteris rubiginosa mexicana</i>	33.2 (3)	126.0 (3)	31.2 (3)	16.6 (5)	.....
Frugívoro:					
<i>Artibeus jamaicensis j.</i>	49.9 $\pm$ 3.50 (10)	227.1 $\pm$ 15.2 (10)	71.9 $\pm$ 7.20 (10)	27.0 $\pm$ 1.46 (10)	1.12 $\pm$ 0.17 (7)
Melífago:					
<i>Leptonycteris nivalis n.</i>	32.2 $\pm$ 1.76 (6)	178.0 $\pm$ 8.2 (6)	62.5 $\pm$ 3.50 (6)	22.6 $\pm$ 0.48 (6)	0.82 $\pm$ 0.78 (4)
	37.4 $\pm$ 1.86 (9)	117.5 $\pm$ 3.2 (9)	47.9 $\pm$ 2.40 (9)	22.8 $\pm$ 0.87 (9)	1.68 $\pm$ 0.17 (9)
Hematófago:					
<i>Desmodus rotundus</i>	34.7 $\pm$ 1.56 (12)	162.5 $\pm$ 3.0 (10)	57.8 $\pm$ 8.88 (12)	26.2 $\pm$ 1.49 (10)	4.36 $\pm$ 0.34 (8)
Ratones: Sin ayuno	59.0 $\pm$ 3.24 (13)	235.1 $\pm$ 5.4 (13)	56.0 $\pm$ 7.34 (13)	29.9 $\pm$ 1.26 (13)	2.93 $\pm$ 0.196 (12)
En ayuno	57.0 $\pm$ 3.14 (8)	220.0 $\pm$ 6.65 (8)	69.3 $\pm$ 3.64 (8)	31.8 $\pm$ 0.86 (8)	1.77 $\pm$ 0.166 (7)

TABLA 2

COMPARACION DEL CONTENIDO EN ALGUNOS AMINOACIDOS LIBRES DEL HIGADO DE RATON CON EL DE DIFERENTES GRUPOS DE MURCIELAGOS

Grupo	mg. del aminoácido por 100 g. de tejido húmedo				
	Acido aspártico	Acido glutámico	Glutamina	Alanina	Serina+Glicina
Insectívoros:					
<i>Macrotus mexicanus</i>	18.8 ± 2.08 (10)	61.8 ± 9.70 (8)	17.6 ± 4.40 (8)	4.0 ± 0.56 (10)	33.2 ± 3.07 (9)
<i>Myotis velifer velifer</i>	17.0 ± 0.97 (12)	134.2 ± 12.20 (10)	20.8 ± 3.30 (10)	4.0 ± 0.39 (9)	40.1 ± 2.70 (10)
<i>Chilonycteris rubiginosa mexicana</i>	10.1	30.6	8.6	16.4	.....
Frugívoro:					
<i>Artibeus jamaicensis j.</i>	12.0 ± 0.82 (10)	51.0 ± 4.90 (10)	39.7 ± 4.24 (10)	7.1 ± 1.35 (10)	17.8 ± 0.83 (7)
Melífago:					
<i>Leptonycteris nivalis n.</i>	12.0 ± 1.08 (6)	46.0 ± 3.35 (6)	19.0 ± 2.40 (6)	8.8 ± 1.06 (6)	15.8 ± 0.76 (6)
	15.2 ± 2.06 (9)	66.4 ± 6.00 (9)	18.6 ± 1.67 (9)	2.4 ± 0.32 (9)	17.4 ± 0.61 (9)
Hematófago:					
<i>D. smodius rotundus</i>	15.5 ± 1.61 (10)	35.0 ± 3.15 (9)	21.7 ± 3.18 (9)	7.9 ± 1.67 (7)	15.5 ± 1.63 (9)
Ratones: Sin ayuno	13.6 ± 0.685 (15)	45.8 ± 2.45 (17)	47.0 ± 2.55 (15)	12.1 ± 0.89 (15)	24.1 ± 1.52 (17)
En ayuno	11.3 ± 1.0 (8)	41.5 ± 2.72 (8)	46.8 ± 4.1 (8)	3.2 ± 0.87 (8)	19.3 ± 1.17 (8)

## RESUMEN

Se analizó el contenido en algunos aminoácidos libres del encéfalo y del hígado en diferentes géneros y especies de murciélagos, el cual se comparó con el encontrado en los respectivos tejidos del ratón.

Los distintos grupos de murciélagos y el ratón mostraron diferencias notables de sus correspondientes patrones de aminoácidos libres, tanto del hígado como del encéfalo. No fue posible establecer ninguna correlación entre el tipo de la dieta ingerida por los murciélagos y las diferencias de composición en aminoácidos libres de los tejidos estudiados.

## SUMMARY

The amino acid content of brain and liver of several genus and species of bats was analyzed by paper bidimensional chromatography. For comparison, the same type of analysis was carried out simultaneously in brain and liver of non-fasted and fasted mice.

Significant differences were found among the different groups of bats regarding the free amino acid pattern of the tissues studied. Apparently, such differences were not correlated with the kind of diet used by the different groups of bats, specially regarding the quality of the proteins.

Nota. Los autores desean expresar su agradecimiento al doctor Bernardo Villa R. por haberles proporcionado los ejemplares de murciélagos que se utilizaron en este trabajo.

## REFERENCIAS

1. AWAPARA, J. Application of paper chromatography to the estimation of free amino acids in tissues, *Arch. Biochem.* 1:172 (1948).
2. AWAPARA, J., A. J. LANDUA y R. FUERST. Distribution of free amino acids and related substances in organs of the rat; *Biochem et Biophys. Acta.* 5:457 (1949).
3. DAWSON, R. M. C. y R. B. WILLIAMS. Glutamine and glutamic acid contents of the rat liver during insulin hypoglycemia, *Biochem. J.*, 47:391 (1950).
4. FLORKIN, M. Composante amino-acide des tissus et des liquides organiques, *Exposés Annuels de Biochimie Médicale*, 19:121 (1957).
5. MASSIEU, H. G., B. G. ORTEGA, C. A. SYRQUIN y M. TUENA. Free amino acids in brain and liver of deoxypyridoxine-treated mice subjected to insulin shock, *J. Neurochem.* 9:143 (1962).
6. MEISTER, A. *Biochemistry of amino acids*, Academic Press Pub., New York, 1957.
7. NAFTALIN, N. A. Quantitative chromatographic estimation of amino acids, *Nature*. 161:763 (1948).

8. ORTEGA, C. B. G., G. H. MASSIEU y R. LLAMAS. Efecto del choque insulínico y de la hiperglicemia adrenalínica sobre la concentración de aminoácidos libres del hígado de la rata, *Anal. Inst. Biol. Univ. Méx.*; 31:25 (1961).
9. TALLAN THOMPSON, H. H. A survey of the amino acids and related compounds in nervous tissue. En: *Amino Acid Pools*. Editor: J. T. Holden, Elsevier.  
fluence of fasting and nitrogen deprivation on the concentration of free amino-
10. THOMPSON, H. T., P. E. SCHURR, L. M. HENDERSON y C. A. ELVEHJEM. The in-  
acids in rat tissues, *J. Biol. Chem.* 182:47 (1950).
11. VILLA, R. B. Los murciélagos de México, su biología, su importancia en la economía y en la salubridad, su clasificación sistemática. Facultad de Ciencias, U.N.A.M., Tesis Doctoral (1960).
12. WILLIAMS, R. J. and KIRBY, H. Paper chromatography using capillary ascent, *Science*, 107:481 (1948).
13. WU, C. Metabolism of free amino acids in fasted and zeinfed rats, *J. Biol. Chem.*, 207:755 (1954).